

اثرات به کارگیری سوربات پتاسیم در جیره بیان ژن های مرتبط با رشد در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

- نیلوفر ملایی قاسمی: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- علی شعبانی*: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- رقیه صفری: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۷

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی تأثیر سطوح مختلف نمک سوربات پتاسیم در جیره بر بیان ژن های مرتبط با رشد بچه ماهیان کپور معمولی صورت پذیرفت. بدین منظور تعداد ۱۶۸ قطعه ماهی کپور با میانگین وزنی $10/2 \pm 2/6$ گرم به مدت ۸ هفته، در چهار تیمار و سه تکرار با جیره های آزمایشی حاوی سطوح مختلف صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد سوربات پتاسیم تغذیه شدند. در پایان دوره از کبد و مغز نمونه برداری، استخراج RNA انجام و برای سنتز cDNA از کیت SuPrime Script RTase استفاده شد. cDNA حاصله با استفاده از پرایمرهای ژن های مرتبط با رشد (GH و IGF1) و ژن بتاکتین به عنوان ژن رفرنس در Real Time PCR استفاده شد. بیان هر دو ژن در تیمارهای تغذیه شده نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. اختلاف معنی داری در میزان بیان ژن GH در تیمارهای تغذیه شده با ۱ و ۲ درصد نسبت به تیمار ۰/۵ درصد مشاهده شد ($P < 0/05$). بیان ژن IGF-1 فقط در تیمار ۱ درصد اختلاف معنی دار با تیمار ۰/۵ درصد نشان داد ($P < 0/05$). نتایج نشان داد که بهترین عملکرد بیان ژن رشد مربوط به تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد سوربات پتاسیم می باشد و می تواند به عنوان محرک رشد در جیره غذایی آبزیان استفاده شود.

کلمات کلیدی: رشد، کپور معمولی، سوربات پتاسیم، بیان ژن



مقدمه

رشد در بچه‌ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام نشده است مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر این محرک بر شاخص‌های رشد و بیان ژن‌های مرتبط با رشد (فاکتور رشد شبه انسولینی و هورمون رشد) در ماهی کپور معمولی انجام شد.

مواد و روش‌ها

تیمار بندی و نمونه برداری: تعداد ۱۶۸ قطعه ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی $15/2 \pm 2/6$ گرم از کارگاه پرورش بخش خصوصی در ساری خریداری و به سالن آبی‌پروری شهیدناصرفضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شد. پس از ۲ هفته سازگاری با شرایط جدید، ماهیان به تعداد ۱۴ قطعه و به صورت تصادفی (چهار تیمار و سه تکرار) در ۱۲ مخزن توزیع شدند. قبل از ذخیره‌سازی، مخزن‌ها به وسیله هیپوکلریت سدیم ضدعفونی و سپس با آب شست و شو داده شدند. جهت حفظ کیفیت آب هفته‌ای دوبار، دوسوم حجم آب مخازن پرورشی تعویض شده و مدفوع ماهی و باقی‌مانده غذا از طریق سیفون کردن از محیط خارج گردید. سوربات پتاسیم ($CH_3CH=CHCH=CHCOOK$) مورد استفاده در این آزمایش با خلوص ۹۹٪ از شرکت سیگما (آلمان) تهیه شد تیمارهای غذایی شامل جیره‌های حاوی ۰ (گروه شاهد: جیره بدون سوربات پتاسیم)، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد در جیره بود (Safari و همکاران، ۲۰۱۷) و ماهیان مورد آزمایش به میزان ۴٪ وزن بدن روزانه ۲ بار تغذیه شدند. پس از محاسبه میزان مکمل غذایی مورد نیاز برای هر تیمار، مقدار محاسبه شده در محلول ژلاتین ۴٪ حل و به غذا اسپری شد (Hoseinifar و همکاران، ۲۰۱۶). جیره تهیه شده در معرض هوا در محیط خشک و تا زمان استفاده در دردمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در این آزمایش در طول دوره پرورش میانگین دمای آب 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد، pH $7/9 \pm 0/15$ و میانگین اکسیژن $7 \pm 0/2$ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب با دماسنج، pH متر و اکسیژن‌متر اندازه‌گیری شد.

نمونه برداری: در پایان دوره ۹ ماهی از هر تیمار (۳ ماهی از هر تکرار) نمونه برداری و با پودر گل میخک ۰/۵ گرم بر لیتر بی‌هوش و جهت سنجش بیان ژن‌های رشد از بافت کبد و مغز نمونه برداری شد. نمونه‌ها بلافاصله در ازت مایع قرار داده و سپس تا شروع آزمایش به فریزر ۸۰- منتقل شدند.

استخراج RNA و سنتز cDNA: RNA کل از ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه بافت مغز (GH) و کبد (IGF1)، هموژن شده با ازت مایع با استفاده از کیت بیوزول و طبق دستورالعمل شرکت سازنده (Biozol-Bioflux-) Bioer (Bioer) استخراج شد. کیفیت RNA کل با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد و مشاهده باندهای ۱۸ S و ۲۸ S مربوط به RNA

افزایش جمعیت انسانی به‌ویژه در قرن حاضر، نیاز روز افزون به منابع پروتئینی به‌خصوص پروتئین حیوانی را طلب می‌کند. با توجه به محدودیت مکان‌های جغرافیایی جهت پرورش و هزینه‌های بالای تهیه خوراک، بی‌تردید جهت بهبود عملکرد ماهیان پرورشی، استفاده از محرک‌های رشد و ایمنی در جیره بسیار راهگشا می‌باشد که بدین منظور استفاده از پروبیوتیک‌ها و پریبیوتیک‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و اسیدهای آلی و نمک‌های آلی به‌طور چشم‌گیری افزایش یافته است (Canibe و همکاران، ۲۰۰۳؛ Luckstadt؛ ۲۰۰۸؛ Ng و همکاران، ۲۰۱۱). اسیدهای آلی ترکیباتی هستند که دارای گروه کربوکسیلیک در ساختمان خود هستند از بین این ترکیبات آن‌هایی که بین ۱ تا ۷ کربن دارند دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشند (Eidelsburger، ۱۹۹۸). ساختار مولکولی کلی آن‌ها به‌صورت R-COOH می‌باشد که R گروه عامل تک والان را نشان می‌دهد. این اسیدها اسیدهای چرب زنجیره کوتاه، اسیدهای چرب فرار یا اسیدهای کربوکسیلیک هم نامیده می‌شوند. اسیدهای آلی از طریق تخمیر میکروبی کربوهیدرات‌ها توسط گونه‌های باکتریایی به طرق مختلف و در شرایط متفاوت تولید می‌شوند (Cummings و همکاران، ۱۹۸۷؛ Macfarlane و Macfarlane، ۲۰۰۳). اثرات مثبت استفاده از اسیدهای آلی، نمک‌های آن‌ها یا ترکیبات متعلق به آن‌ها در جیره آبی‌زبان به جهت کنترل بیماری و بهبود عملکرد رشد در اثرات مثبت اسیدهای آلی (از جمله اسیدهای چرب کوتاه زنجیره) بر رشد ماهیان در مطالعات مختلف از جمله چارقطبی (*Salvelinus alpinus*) (Ringø، ۱۹۹۱)، سالمون آتلانتیک (*Salmo salar*) (Luckstadt، ۲۰۰۸؛ Ringo و همکاران، ۱۹۹۴)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Sato و Pandey، ۲۰۰۸)، فیل‌ماهی (*Huso huso*) (Hosseini و Khajepour، ۲۰۱۱)، هیبرید تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) (Ng و همکاران، ۲۰۰۹)، Zouh و همکاران، ۲۰۰۹)، گربه‌ماهی (*Clarias gariepinus*) (Owen و همکاران، ۲۰۰۶)، ماهی‌سیم (*Pagrus major*) (Hosseini و همکاران، ۲۰۰۷) و روهو (*Labeo rohita*) (Baruah و همکاران، ۲۰۰۷)، میگوی سفید (*Litopenaeus vannamei*) (Romano و همکاران، ۲۰۱۵) (*Rutilus frisii*)، ماهی سفید دریای خزر (*Oncorhynchus mykiss*) (Hoseinifar و همکاران، ۲۰۱۶) گزارش شده است. اما مطالعات در زمینه استفاده از اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها در بیان ژن کم و تنها محدود به مطالعه Safari و همکاران (۲۰۱۶)، Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۶) و Safari و همکاران (۲۰۱۷) می‌باشد. نتایج این مطالعات نشان داد که کارایی رشد ماهیان را با استفاده از برخی اسیدهای آلی می‌توان بالا برد. از آن‌جا که تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثرات به کارگیری سوربات پتاسیم در جیره بر بیان ژن‌های مرتبط با



۷۰ درجه سانتی‌گراد آنکوبه گردید تا واکنش غیرفعال شود. به هر تیوپ ۳۸۰ میکرولیتر آب دیس اضافه شد و سپس cDNA های سنتز شده تا شروع آزمایش‌ها در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

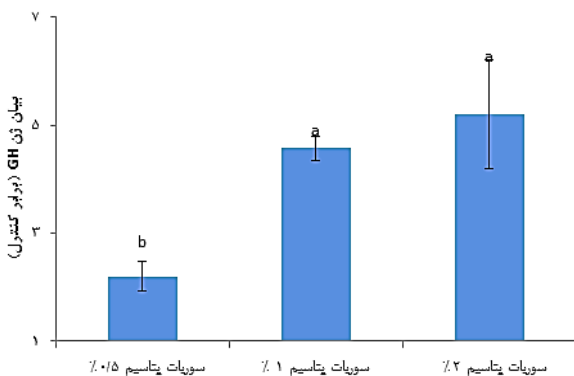
واکنش qPCR: واکنش qPCR بعد از بهینه‌سازی دما و مواد مصرفی، در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر با استفاده از آغازگرهای طراحی شده برای ژن‌های مورد بررسی و ژن رفرنس بتا‌اکتین (جدول ۱) توسط کیت سایبر بیوپارس (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان) در دستگاه iQ5 شرکت بایورد و با استفاده از نرم‌افزار بایورد iQ5 اپتیکال برای بافت‌های کبد و مغز در ۴ تکرار بیولوژیکی انجام شد. از آنجایی که در دمای ۵۸ درجه محصول غیراختصاصی و دایمر مشاهده نشد، این دما به‌عنوان دمای واکنش در نظر گرفته شد. به‌منظور اطمینان از بهینه بودن شرایط qPCR، سری غلظت‌های مختلف (۱، ۱/۲، ۱/۵، ۱/۱۰، ۱/۲۰ و ۱/۵۰) از نمونه‌های cDNA مخلوط از تیمارهای متفاوت از بافت‌های مذکور تهیه و با هر دو پرایمر هدف و رفرنس در ۳ تکرار تکثیر و کارایی (E) پرایمرهای مورد استفاده تخمین زده شد (جدول ۱) (Bustin و همکاران، ۲۰۰۹).

ریبوزومی و کمیت RNA با استفاده از نسبت جذب در طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ (OD_{۲۶۰/۲۸۰}) نانومتر به‌دست آمده از دستگاه نانوفتومتر (IMPLEN-P100- آلمان) انجام گردید. سپس نمونه‌های RNA به غلظت ۵۰۰ نانوگرم در میکرولیتر با استفاده از آب دیس رقیق شدند. جهت حذف هرگونه باقی‌مانده DNA ژنومی در نمونه‌های RNA، تیمار DNase I انجام شد و سپس ساخت رشته اول cDNA با استفاده از کیت SuPrime Script RTase براساس روش پیشنهادی شرکت با استفاده از ۵ میکرولیتر از RNA (غلظت ۵۰۰ نانوگرم)، ۱ میکرولیتر آغازگر الیگو dt (۱۸-۲۰ الیگونوکلوئید) و ۵ میکرولیتر آب دیس انجام شد. بدین منظور تیوپ‌ها به‌مدت ۵ دقیقه در ۷۰ درجه سانتی‌گراد آنکوباسیون شدند و سپس به‌سرعت روی یخ قرار گرفتند. ۴ میکرولیتر بافر ۵X آنزیم نسخه‌بردار معکوس، ۲ میکرولیتر dNTP ۱۰ میلی‌مولار و ۲۰ واحد آنزیم RNase inhibitor و ۱/۵ میکرولیتر آب دیس به مخلوط بالا اضافه شد. تیوپ‌ها به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در آنکوباتور قرار گرفت. بلافاصله ۲۰۰ واحد آنزیم نسخه‌بردار معکوس به هر تیوپ اضافه گردید و به‌مدت ۱ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد، سپس تیوپ‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در بررسی بیان ژن رشد در ماهی کپور معمولی (Safari و همکاران، ۲۰۱۷)

| کارایی پرایمر | نام پرایمر | توالی (۳'-۵') | دمای اتصال (C°) |
|---------------|----------------------|---------------------------|-----------------|
| %۹۹ | GHqPCRf | TCTTCGCATCTCTTTTCACC | ۵۸ |
| | GHpCRR | AGTCGGCCAGCTTCTCA | |
| %۹۹ | IGF1qPCRf | GGCATTGGTGTGATGTCTTT | ۵۸ |
| | IGF1qPCRR | CATATCCTGTCGGTTTGCTG | |
| %۹۹ | β -actin qPCRf | AGACATCAGGGTGTGCATGGTTGGT | ۵۸ |
| | β -actin qPCRR | CTCAACATGATCTGTGTCAT | |

تیمارهای ۱ و ۲ درصد نسبت به هم معنی‌دار نبود ($P \geq 0/05$) اما با تیمار ۵/۰ درصد اختلاف معنی‌دار نشان داد ($P < 0/05$). پیک مشاهده شده در منحنی ذوب آغازگر برای هر محصول، بیانگر وجود یک محصول ویژه و تکثیر اختصاصی است (شکل ۲).



شکل ۱: تغییرات بیان نسبی ژن GH به بتا‌اکتین در ماهی کپور معمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف سوربات پتاسیم حروف کوچک اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) بین تیمارها را نشان می‌دهد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های مربوط به بیان نسبی ژن با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (برای $\Delta\Delta Ct$) برابر است با ΔCt ژن هدف منهای ΔCt کالیبراتور) آنالیز و سپس نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولوموگروف اسمیرنوف تست شد. سپس توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه در سطح اطمینان ۹۵ درصد آنالیز شدند. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد. نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۰ ترسیم شد.

نتایج

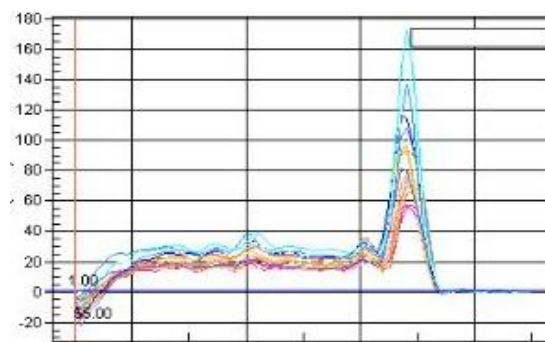
نتایج ارزیابی بیان ژن‌ها: ارزیابی بیان ژن GH در ماهی کپور در تیمارهای حاوی سوربات پتاسیم افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) را نسبت به تیمار شاهد (تیمار ۲ درصد، ۵/۲ برابر، تیمار ۱ درصد، ۴/۵۷ برابر و تیمار ۵/۰ درصد، ۲/۲ برابر شاهد) نشان داد. با افزایش دوز میزان بیان این ژن‌ها افزایش یافت که این افزایش در



بحث

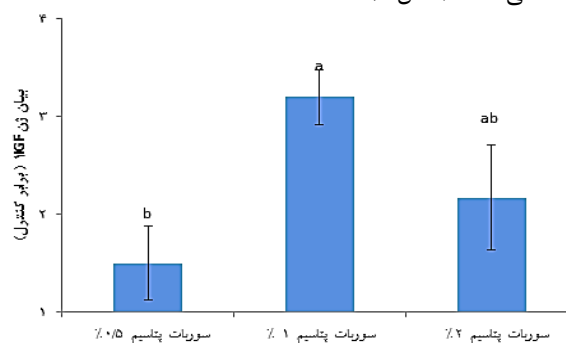
در بسیاری از مزارع پرورشی شرایط محیطی نامطلوب نظیر تغییرات در pH، پایین بودن اکسیژن محلول، نوسانات دمایی، افت کیفیت آب جهت پرورش و یا مشکلات مدیریتی شامل تغذیه ناکافی، تغذیه بیش از حد و تراکم خارج از استاندارد شرایط استرس‌زایی را بر ماهیان پرورشی تحمیل نموده که سبب پایین آمدن سطح ایمنی و کاهش رشد می‌گردد (Winton، ۲۰۰۱). بنابراین مطالعات به سمت اثرات تغذیه‌ای محرک‌های طبیعی رشد و ایمنی از جمله پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، گیاهان و عصاره‌های گیاهی، اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها سوق پیدا کرده است (Romano و همکاران، ۲۰۱۵؛ Safari و همکاران، ۲۰۱۶؛ ۲۰۱۷). در بین این محرک‌ها، اسیدی فایرها یا نمک‌های اسیدهای آلی به‌عنوان جایگزینی مناسب معرفی شده‌اند (Eidelsburger، ۱۹۹۸). اسیدهای آلی می‌توانند بهره‌وری ماده مغذی را افزایش داده و مقاومت بیماری را در حیوانات دریایی بالا ببرند و موجب بهبود رشد گردند. با این وجود علی‌رغم افزایش در دسترس پذیری ماده مغذی ناشی از افزودن اسیدهای آلی در رژیم‌های غذایی آبزیان، نتایج متناقضی در خصوص اثر آن‌ها به‌عنوان محرک رشد در دسترس می‌باشد که براساس گونه آبی و دوز اسیدهای آلی به‌کار رفته متفاوت است.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن مکمل غذایی نمک سوربات پتاسیم به رژیم غذایی ماهی کپور معمولی سبب افزایش بیان ژن هورمون رشد و فاکتور رشد شبه انسولین شد. به‌طوری‌که براساس نتایج به‌دست آمده اختلاف معنی‌داری در میزان بیان ژن GH در تیمارهای تغذیه‌شده با ۱ و ۲ درصد نسبت به دو تیمار شاهد و ۰/۵ درصد مشاهده شد ($P < 0.05$). بیان ژن IGF-1 فقط تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نشان دادند ($P < 0.05$). بهبود کارایی رشد با استفاده از اسیدهای آلی در هیبرید تیلاپیا (Ramil و همکاران، ۲۰۰۵)، میگوی وانامی (Silva و همکاران، ۲۰۱۶)، کپور معمولی (Liu و همکاران، ۲۰۱۴)، سی‌بریم (Robles و همکاران، ۲۰۱۳)، سالمون اقیانوس اطلس (Gislason و همکاران، ۱۹۹۶) گزارش شده است. Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۶) افزایش بیان ژن‌های رشد (IGF1 و GH) در ماهی گورخری تغذیه شده با جیره حاوی نمک پروپیونات سدیم را گزارش نمودند. Safari و همکاران (۲۰۱۷) نیز طی مطالعه‌ای اعلام نمودند استفاده از نمک سدیم پروپیونات در جیره ماهی کپور معمولی باعث افزایش بیان ژن‌های مرتبط با رشد (IGF1 و GH) در تمام تیمارهای پروپیونات سدیم نسبت به گروه شاهد شد. براساس این مطالعات اسیدهای آلی می‌توانند به‌طریق مختلف از جمله کاهش PH محتویات روده، کاهش pH معده و عملکرد بهتر پپسین، کاهش باکتری‌های مضر و توازن فلور میکروبی روده (Luckstadt،



شکل ۲: منحنی ذوب ترسیم شده برای آغازگر GH

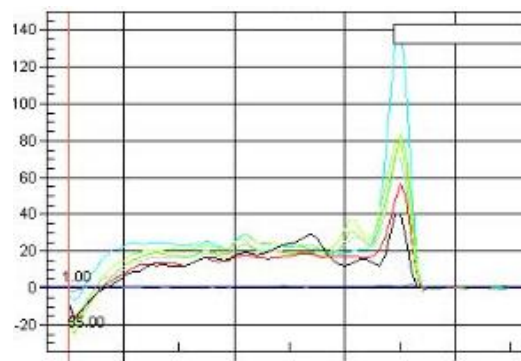
ارزیابی بیان ژن IGF1 در ماهی کپور در تیمارهای حاوی سوربات پتاسیم افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) را نسبت به تیمار شاهد (تیمار ۲ درصد، ۲/۱۷ برابر، تیمار ۱ درصد، ۳/۲ و تیمار ۰/۵ درصد، ۱/۵ برابر شاهد) نشان داد. تیمار حاوی ۱ درصد سوربات پتاسیم نسبت به تیمار ۰/۵ درصد افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$). در تیمار حاوی ۲ درصد سوربات پتاسیم کاهش نشان داده شد که این میزان کاهش معنی‌دار نبود ($P \geq 0.05$). پیک مشاهده شده در منحنی ذوب آغازگر برای هر محصول، بیانگر وجود یک محصول ویژه و تکثیر اختصاصی است (شکل ۴).



شکل ۳: تغییرات بیان نسبی ژن IGF1 به بتا‌کتین در ماهی

کپور معمولی تغذیه شده با سطوح مختلف سوربات پتاسیم

حروف کوچک اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) بین تیمارها را نشان می‌دهد.



شکل ۴: منحنی ذوب ترسیم شده برای آغازگر IGF1

- health. Danish Institute of Agricultura Sciences, Research Centre Foulum, Denmark. 14 p.
۶. **Cummings, J.H.; Pomare, E.W.; Branch, W.J., Naylor, C.P.E. and Macfarlane, G.T., 1987.** Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic, and venous blood. *Gut*. Vol. 28, pp: 1221-1227.
 ۷. **Eidelsurger, U., 1998.** Feeding short-chain organic acids to pigs. In: Garnsworthy, P.C., Wiseman, J. (Eds). *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham University press, Noytingham. pp: 93-106.
 ۸. **Freitag, M., 2007.** Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry. In: Luckstadt, C., editor. *Acidifiers in Animal Nutrition – A Guide for Feed Preservation and Acidification to Promote Animal Performance*. 1st ed, Nottingham University Press, Nottingham, UK. pp: 1-11.
 ۹. **Gislason, G.; Olsen, R.E. and Ringo, E., 1994.** Lack of growth-stimulating effect of lactate on Atlantic salmon, *L. Aquaculture and Fisheries Management*. Vol. 25, pp: 861-862.
 ۱۰. **Hossain, M.A.; Pandey, A. and Satoh, S., 2007.** Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science*. Vol. 73, pp:1309-1317.
 ۱۱. **Hoseinifar, S.H. and Romano, N., 2017.** Comparing the effects of different dietary organic acids on the growth, intestinal short-chain fatty acids, and liver histopathology of red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.) and potential use of these as preservatives. *Fish Physiology and Biochemistry*. Vol. 11, pp: 1-13.
 ۱۲. **Khajepour, F. and Hosseini, S.A., 2012.** Citric acid improves growth performance and phosphorus digestibility in Beluga (*Huso huso*) fed diets where soybean meal partly replaced fish meal. *Animal Feed Science and Technology*. Vol.171, pp: 68-73.
 ۱۳. **Katoh, K.; Ohata, Y. and Ishiwata, H., 1999.** Suppressing effects of short-chain fatty acids on growth hormone (GH) releasing hormone- induced GH release in isplated anterior pituitary cells of goats. *Domestic animal Endocrinology*. Vol. 17, No. 1, pp: 85-93.
 ۱۴. **Koh, C.B.; Romano, N.; Siti-Zahrah, A. and Ng, W.K., 2016.** Effects of a dietary organic acids blend and oxytetracycline on the growth, nutrient utilization and total cultivable gut microbiota of the red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp., and resistance to *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture Research*. Vol. 47, pp: 357-369.
 ۱۵. **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*. Vol. 185, pp: 313-327.
 ۱۶. **Liu, W.; Yang Y.; Zhang, J.; Gatlin, D.M.; Ringo, E. and Zhou, Z., 2014.** Effects of dietary microencapsulated sodium butyrate on growth. Intestinal mucosal morphology, immune response and adhesive bacteria in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) pre-fed with or without oxidized oil. *British Journal of Nutrition*. Vol. 112, pp: 15-29.
 ۱۷. **Luckstadt, C., 2008.** The use of acidifiers in fish nutrition. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science. Nutrition and Natural Resources*. Vol. 44, pp: 1-8.
 ۱۸. **Macfarlane, S. and Macfarlane, G.T., 2003.** Regulation of short-chain fatty acid production. *Proceeding of Nutritional Society*. Vol. 62, pp: 67-72.
 ۱۹. **Ng, W.K.; 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, (۲۰۰۸). افزایش قابلیت هضم مواد معدنی (Koh و همکاران، ۲۰۱۶)، افزایش رشد ویژه، قابلیت هضم پروتئین و کاهش ضریب تبدیل غذایی (Khajepour و Hosseini، ۲۰۱۲) بر عملکرد رشد اثر گذارند. علاوه بر این اسیدهای آلی با کاهش pH غذا از رشد فلور میکروبی در غذا جلوگیری کرده و موجب کاهش جذب ارگانسیم‌های پاتوژن احتمالی و متابولیت‌های سمی آن‌ها از طریق غذا در جانوران پرورشی می‌شوند (Freitag، ۲۰۰۷). در تضاد با مطالعه حاضر Katoh و همکاران (۱۹۹۹) اثرات سرکوب‌کننده پروبیوتان و بوتیرات بر هورمون رشد (GH) مورد بررسی در هیپوفیز بز را گزارش نمودند. هم‌چنین در مطالعه سلیمانی ایرانی و همکاران (۱۳۹۱) اختلاف معنی‌داری در عملکرد نهایی رشد بین تیمارهای آزمایشی تغذیه‌شده با اسیدهای آلی و تیمار شاهد مشاهده نشد که با نتایج مطالعه حاضر مغایرت داشت. به‌نظر می‌رسد عدم تأثیر این اسیدهای آلی و نمک‌هایشان روی کارایی رشد در ماهیان به عواملی هم‌چون گونه ماهیان، اندازه و سن ماهیان، نوع و سطوح اسیدهای آلی و نمک‌هایشان و یا ترکیب آن‌ها مرتبط باشد (Lim و همکاران، ۲۰۰۰).
- با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش و مطالعات گذشته می‌توان اثرات مثبت استفاده از اسیدهای آلی در تغذیه ماهیان پرورشی بر کارایی رشد ماهیان را مشاهده نمود که این نتایج می‌تواند به افزایش بهره‌وری اقتصادی در پرورش تجاری ماهیان کمک شایانی نماید.

منابع

۱. سلیمانی ایرانی، م.؛ سجادی، م.م.؛ فرحی، ا.؛ کریم‌زاده، ص.و. کرامت‌امیرکلاتی، ع.، ۱۳۹۱. اثرات سطوح مختلف مکمل‌های اسیدهای آلی بر کارایی رشد، ترکیبات لاشه و شاخص‌های خونی بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). *مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان*. جلد ۱، شماره ۳، صفحات ۱۰ تا ۲۰.
۲. **Baruah, K.; Sahu, N.P.; Pal, A.K., Jain, K.K., Debnath, D. and Mukherjee, S.C., 2007a.** Dietary microbial phytase and citric acid synergistically enhances nutrient digestibility and growth performance of (*Labeo rohita* (Hamilton)) juveniles at sub-optimal protein level. *Aquaculture Research*. Vol. 38, pp: 109-120.
۳. **Baruah, K.; Sahu, N.P.; Pal, A.K., Debnath, D.; Yengkokpam, S. and Mukherjee, S.C., 2007b.** Interactions of dietary microbial phytase, citric acid and crude protein level on mineral utilization by rohu (*Labeo rohita* (Hamilton)), juveniles. *World Aquaculture Society*. Vol. 38, pp: 238-249.
۴. **Bustin, S.A.; Bens, V.; Garson, J.A.; Hellemans, J.; Huggett, J.; Kubista, M.; Mueller, R.; Nolan, T.; Pfaffl, M.W.; Shipley, G.L.; Vandesompele, J. and Wittwer, C.T., 2009.** The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*. Vol. 55, No. 4, pp: 611-622.
۵. **Canibe, N.; Ricarde, M.E. and Jensen, B.B., 2003.** An overview of the effect of organic acid on gut flora and gut



- (*Oreochromis sp*) and subsequent survival during a challenge test with (*Streptococcus agalactiae*). Aquaculture Research. Vol. 40, pp: 1490-1500.
۲۰. **Ng, W.K. and Koh, C.B., 2011.** Application of organic acid in aquafeeds: impacts on fish growth C (ed). Standards for Acidifiers principles for the Use of Organic Acids in Animal Nutrition. Proceeding of the 1st International Acidifier summit. Nottingham University press, Nottingham. pp: 46-58.
۲۱. **Owen, M.A.G.; Waines, P.; Bradley, G. and Davies, S., 2006.** The effect of dietary supplementation of sodium butyrate on the growth and microflora of (*Clarias gariepinus*) (Burchell 1822). Abstract from the 12th International Symposium Fish Nutrition and Feeding. Biarritz, France.
۲۲. **Pandey, A. and Satoh, S., 2008.** Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Science. Vol. 74, pp: 867-874.
۲۳. **Ramli, N.; Heindl, U. and Sunanto, S., 2005.** Effect of potassium diformate on growth performance of tilapia challenged with *Vibrio anguillarum*. Abstract, World Aquaculture, Bali, Indonesia.
۲۴. **Ringo, E., 1991.** Effects of dietary lactate and propionate on growth and digesta in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L). Aquaculture. Vol. 96, pp: 321-333.
۲۵. **Ringo, E.; Olsen, R.E. and Castell, J.D., 1994.** Effect of dietary lactate on growth and chemical composition of Arctic charr *Salvelinus alpinus*. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 25, pp: 483-486.
۲۶. **Robels, R.; Lozano, A.B.; Sevilla, A.; Marquez, L.; Nuez Ortin, W. and Moyano, F.J., 2013.** Effect of partially protected butyrate used as feed additive on growth and intestinal metabolism in sea bream (*Sparus aurata*). Fish physiology and Biochemistry. Vol. 39, pp: 1567-1580.
۲۷. **Roe, A.J.; McLaggan, D.; Davidson, I.O.; Byrne, C. and Brooth, I.R., 1998.** Perturbation of anion balance during inhibition of growth of *Escherichia coli* by weak acids. Journal of Bacteriology. Vol. 180, pp: 77-72.
۲۸. **Romano, N.; Koh, C.B. and Ng, W.K., 2015.** Dietary microencapsulated organic acids blend enhances growth, phosphorus utilization, immune response, hepatopancreatic integrity and resistance against *Vibrio harveyi* in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. Vol. 435, pp: 228-236.
۲۹. **Safari, R.; Hoseinifar, S.H.; Nejadmoghdam, S.H. and Jafar, A., 2008.** Transcriptomic study of mucosal immune, antioxidant and growth related genes and non-specific immune response of common carp (*Cyprinus carpio*) fed dietary Ferula (*Ferula assafoetida*). Fish and Shellfish Immunology. Vol. 55, pp: 242-248.
۳۰. **Safari, R.; Hoseinifar, S.H.; Nejadmoghdam, S.H. and Khalil, M., 2017.** Non-specific immune parameters, immune, antioxidant and growth-related genes expression of common carp (*Cyprinus carpio*) fed sodium propionate. Aquaculture Research. Vol. 5, pp: 1-9.
۳۱. **Safari, A.R.; Hoseinifar, S.H. and Kavandi, M., 2016.** Modulation of antioxidant defense and immune response in zebra fish (*Danio rerio*) using dietary sodium propionate. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 10, pp: 10-20.
۳۲. **Silva, B.C.; Vieria, F.N.; Mourino, J.L.P.; Blivar, N. and Seiffert, W.Q., 2016.** Butyrate and propionate improve the growth performance of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Research. Vol. 47, pp: 612-620.
۳۳. **Winton, J.R., 2001.** Fish health management. In: Wedemeyer, G., 2001. Fish hatchery management 2nd edition. Bethesda, M.D, American Fisheries Society. Vol. 10, pp: 559-639.

