ارزیابی عملکرد رشد، برخی از پارامترهای خونی و ایمنی بچه‌ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه‌شده با مکمل اسیدی‌فایر

- **صمد اصغرزاده**: گروه شیلات، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
- **رضا طاعتی***: گروه شیلات، واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش، ایران

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۸

چکیده

در این تحقیق، تأثیر مکمل اسیدی‌فایر بر رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*) مورد مطالعه قرار گرفت. طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در قالب چهار تیمار هر یک در سه تکرار طراحی گردید. مکمل اسیدی‌فایر در چهار سطح، ۰، ۲، ٤ و ۸ گرم در کیلوگرم به جیره پایه اضافه گردید. تعداد ۸٤ عدد بچه‌ماهی کپورمعمولی با میانگین وزنی ۲/۰۸ ±۱۸/۳۰ گرم با تراکم ۷ عدد در ۱۲ آکواریوم ٤۰ لیتری به‌مدت ٦۰ روز تغذیه شدند. نتایج نشان داد که بیش‌ترین وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، میانگین رشد روزانه، سرعت رشد ویژه و کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۸ گرم در کیلوگرم مکمل اسیدی‌فایر مشاهده شد (p<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری در میزان ضریب چاقی و نرخ زنده‌مانی ماهیان بین تیمارها ثبت نگردید (p>۰/۰۵). تیمار ۸ گرم در کیلوگرم مکمل اسیدی‌فایر در تعداد گلبول‌های قرمز، مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد نوتروفیل اختلاف معنی‌دار آماری (p<۰/۰۵) با بقیه تیمارها داشت. هم‌چنین همین تیمار بیش‌ترین تعداد گلبول‌های سفید و تعداد منوسیت را به خود اختصاص داد (p>۰/۰۵). از طرف دیگر، بالاترین مقادیر ایمنوگلوبولین M (IgM) و لیزوزیم در تیمار ۲ گرم در کیلوگرم مکمل اسیدی‌فایر مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند (p>۰/۰۵). براساس یافته‌های به‌دست‌آمده می‌توان اظهار نمود که مکمل اسیدی‌فایر می‌تواند باعث ارتقای عملکرد رشد و بهبود برخی از پارامترهای خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی گردد.

کلمات کلیدی: ماهی کپور معمولی، مکمل اسیدی‌فایر، رشد، خون، ایمنی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: r.taati@gmail.com

مقدمه

با توجه به افزایش جمعیت جهانی و نیاز مبرم به منابع پروتئینی و هم‌چنین محدودیت‌های صید از منابع آبی، صنعت آبزی‌پروری در دهه اخیر رشد فزاینده‌ای پیدا نموده است. از طرف دیگر، این صنعت باید سودآور و دارای حداقل اثرات زیست‌محیطی باشد (Klinger و Naylor، ۲۰۱۲). ماهی کپور معمولی نقش مهمی در افزایش تولیدات آبزی‌پروری در جهان ایفا می‌کند. این‌گونه به‌دلیل توانایی تولیدمثل در شرایط اسارت، سرعت رشد مطلوب، هزینه‌های کم‌تغذیه‌ای، قیمت پایین، ارزش غذایی بالا، بازارپسندی و ارزش اقتصادی غیرقابل‌انکاری دارد (Rahman، ۲۰۱۵). اگرچه انواع بیمارها مشکلات اساسی را در صنعت آبزی‌پروری به‌وجود آورده و خسارات زیادی را در پی داشته لیکن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در کشورهای عضو اتحادیه اروپا، آمریکا و کانادا ممنوع شده است (Heuer و همکاران، ۲۰۰۹). ازاین‌رو، اراده راسخی درخصوص استفاده ازانواع محرک‌های‌رشد،محرک‌های ایمنی، مهارکننده‌های عوامل بیماری‌زا به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها از قبیل پروبیوتیک‌ها، پربیوتیک‌ها، عصاره گیاهان و اسیدی‌فایرها وجود دارد (Devasree و همکاران، ۲۰۱۴؛ Selim و همکاران، ۲۰۱۵). اسیدی‌فایرها مخلوطی از اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها بوده که طی فرایند تخمیر میکروبی تولید می‌شوند.انواع اسیدهای آلی شامل فرمیک، پروپیونیک، استیک، بوتریک، سیتریک، لاکتیک، مالیک، سوربیک و نمک‌های آن‌ها در بافت‌های گیاهان و جانوران وجود داشته و به‌عنوان اسیدی‌فایر در صنعت تغذیه دام، طیور و اخیراً در آبزی‌پروری مورد بهره‌برداری قرارگرفته‌اند (Defoirdt و همکاران، ۲۰۰۹). برخی از اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها (نظیر سدیم، پتاسیم و کلسیم) این قابلیت را داشته که رشد را تحریک نموده و سلامتی موجود را ارتقا دهند. هم‌چنین مقاومت به بیماری‌ها را افزایش داده و وقتی‌که به غذا افزوده شوند کارایی آن را بالا می‌برند. اسیدهای آلی مورد استفاده در تحقیق حاضر عبارتند از: اسیدپروپیونیک و اسیدفرمیک که جزو اسیدهای آلی با زنجیره کوتاه بوده و نیز نمک‌های آن‌ها شامل آمونیوم فرمات و آمونیوم پروپیونات می‌باشد. اسیدپروپیونیک ترکیب ضدقارچ قوی بوده درحالی‌که اسیدفرمیک ترکیب ضد باکتریایی قوی می‌باشد و pH محیط را به‌شدت کاهش می‌دهد (Celik و همکاران، ۲۰۰۳). علاوه بر این، اسیدی‌فایرها در مسیرهای سوخت‌وساز بدن شرکت کرده و باعث افزایش تولید انرژی در چرخه اسیدهای کربوکسیلیک شده و قابلیت هضم مواد غذایی را افزایش می‌دهند. آن‌ها از طریق پوشش اپیتلیال روده جذب و انرژی لازم را برای بازسازی این پوشش فراهم کرده و سلامت روده را حفظ می‌کنند (Vielma و Lall، ۱۹۹۷). دستگاه گوارش ماهیان در قیاس با پستانداران میزان اسید کمی ترشح می‌کند. از مزایای اسیدی‌فایرها می‌توان به کاهش pH دستگاه گوارش، افزایش هیدرولیز فسفات، کاهش عوامل بیماری‌زا، کاهش مدت‌زمان تخلیه دستگاه گوارش، افزایش فعالیت آنزیم پپسین، ابقا بیش‌تر نیتروژن، ازدیاد قابلیت هضم غذا و جذب مواد معدنی و انتقال آن‌ها اشاره نمود (Kotzamanis و همکاران، ۲۰۰۷؛ Luckstadt، ۲۰۰۸؛ Da Silva و همکاران، ۲۰۱۳). ازنقطه‌نظر دیگر، اسیدهای آلی بانفوذ به دیواره سلولی باکتری‌هایی نظیر اشرشیاکلی، سالمونلا (Zhou و همکاران، ۲۰۰۹)و ویبریو (Da Silva و همکاران، ۲۰۱۳) باعث افزایش ورود پروتون به‌داخل سلول شده و باکتری برای خروج پروتون‌ها با صرف انرژی زیادجهت حفظ pH سلول خود تلاش می‌کند، به‌طوری‌که به‌دنبال کاهش انرژی سلول، مرگ تدریجی باکتری آغاز می‌شود. در صورتی‌که لاکتوباسیل‌ها تحت تأثیر اسیدها قرار نگرفته و حتی تعدادشان افزایش می‌یابد (Zhou و همکاران، ۲۰۰۹، Defoirdt و همکاران، ۲۰۰۹). مطالعات زیادی درخصوص تأثیرات انواع اسیدی‌فایرها و نمک‌های آن‌ها بر عملکرد رشد و پارامترهای خونی در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (سلیمانی‌ایرایی و همکاران، ۱۳۹۱؛ Pandey and Satoh، ۲۰۰۸؛ Mortezavi Tabrizi ، ۲۰۱۲)، کلمه خزری (*Rutilus caspicus*) (مازندرانی و همکاران، ۱۳۹۷)، سیم دریایی قرمز (*Pagrus major*) (Hossain و همکاران، ۲۰۰۷)، هیبرید تیلاپیای قرمز (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) (Ng و همکاران، ۲۰۰۹)،فیل‌ماهی (*Huso huso*)(Khajepour و Hosseini، ۲۰۱۲)، تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Abu Elala و Ragaa، ۲۰۱۵؛ Reda و همکاران ۲۰۱۶) انجام‌شده است. بسیاری از مطالعات فوق بر نقش مثبت و سازنده انواع اسیدهای آلی و نمک‌های مشتق شده از آن‌ها برافزایش وزن، بازده پروتئینی، کارایی تغذیه، بهبود فلور روده و شاخص‌های خونی تأکید داشته‌اند. در عوض، گزارش‌هایی مبنی بر عدم تأثیر این ترکیبات بر آبزیان نیز وجود دارند. هدف بررسی حاضر، ارزیابی تأثیر مکمل اسیدی‌فایر در جیره غذایی و تأثیر آن بر رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی ماهی کپور معمولی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش: به‌منظور اجرای این پروژه تعداد ۸۴ عدد بچه‌ماهی کپورمعمولی پس از زیست‌سنجی و تعیین زی‌توده با میانگین وزنی ۲/۰۸±۱۸/۳۰ گرم و طول کل ۰/۷۶±۱۱/۰۳ سانتی‌متر انتخاب و به‌مدت یک هفته برای سازگاری با محیط پرورش به ۱۲ عدد آکواریوم ۴۰ لیتری با تراکم ۷ عدد در هر آکواریوم انتقال داده شدند. کلیه آکواریوم‌ها در یک محیط بسته قرار داده شدند و شرایط

نوری‌به‌صورت ۱۰ساعت تاریکی و ۱۴ ساعت روشنایی تنظیم گردید. میانگین دما، اکسیژن محلول و pH طی دوره پرورش به‌ترتیب ۱/۶۷±۲۷/۳۱ درجه سانتی‌گراد، ۰/۱۹±۷/۵۰ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۴۳±۷/۲ بود.

مکمل اسیدی‌فایر و تهیه جیره‌های آزمایشی: غذای تجاری پایه از نوع اکسترود مخصوص ماهی کپورمعمولی (FFC1) ساخت شرکت فرادانه- ایران بوده و ترکیبات آن شامل پروتئین خام ۳۶٪، چربی‌خام ۹٪، عصاره عاری از ازت ۲۸/۹٪، فیبر خام ۵٪، رطوبت ۱۰٪، خاکستر ۱۰٪، فسفر ۱/۱٪ با میزان انرژی خام ۱۷/۰۱ کیلوژول در گرم بود. در این تحقیق با توجه به اهداف آزمایش ۴ تیمار انتخاب و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. تیمارهای غذایی حاوی سطوح ۰، ۲، ۴ و ۸ گرم در کیلوگرم مکمل اسیدی‌فایر Biotronic (شرکت Biomin® - اتریش) شامل اسیدفرمیک، اسیدپروپیونیک و نمک‌های آمونیوم فرمات و آمونیوم پروپیونات در جیره درنظر گرفته شدند (Su و همکاران، ۲۰۱۴). ابتدا جیره پایه با هم‌زن به شکل پودر درآورده شد. سپس پودر اسیدی‌فایر در مقادیر مذکور به جیره اضافه و به‌مدت ۲۰ دقیقه با هم‌زن برقی به‌طور کامل مخلوط گردید تا همگن شود. پس از افزودن مقداری آب به ترکیب و تشکیل خمیر، مخلوط از چرخ‌گوشت عبور داده شد تا غذا به پلت‌های استوانه‌ای تبدیل گردد. قطر پلت‌های مورداستفاده ۲/۵ میلی‌متر بود. پلت‌ها در آون به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس پلت‌ها بسته‌بندی و در دمای ۱۴- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. غذادهی در ۴ نوبت (۸ صبح، ۱۲ ظهر، ۱۶ عصر و ۲۰ شب) براساس میزان اشتها و در حد سیری (حداکثر ۵ درصد) به‌مدت ۶۰ روز انجام گرفت (فلاحتکار و همکاران، ۱۳۹۱).

سنجش پارامترهای رشد و تغذیه: در پایان دوره تغذیه، وزن همه جمعیت ماهیان توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم وطول کل به‌وسیله تخته زیست‌سنجی اندازه‌گیری شدند. پارامترهای رشد براساس فرمول‌های ذیل (Luo و همکاران، ۲۰۱۰) محاسبه شدند:

= افزایش وزن بدن (درصد)

[میانگین وزن اولیه (گرم)/ (میانگین وزن اولیه (گرم)- میانگین وزن نهایی (گرم))] × ۱۰۰

= نرخ رشد ویژه (درصد در روز)

[دوره پرورش (روز)/ (میانگین وزن اولیه (گرم)Ln- میانگین وزن نهایی (گرم))Ln] ×۱۰۰

میزان افزایش وزن بدن (گرم)/ مقدار غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی

= میانگین رشد روزانه

[دوره پرورش (روز)×میانگین وزن اولیه (گرم)/ (میانگین وزن اولیه (گرم)- میانگین وزن نهایی (گرم))] × ۱۰۰

^{3} طول (سانتی‌متر) / ۱۰۰ × وزن (گرم) = ضریب چاقی (درصد)

تعداد ماهیان در ابتدای دوره/ تعداد ماهیان در پایان دوره) × ۱۰۰ = میزان زنده‌مانی (درصد)

سنجش پارامترهای خونی و ایمنی: در پایان آزمایش و ۲۴ ساعت پس از قطع غذادهی، از هر تیمار ۳ قطعه ماهی (درمجموع ۱۲ نمونه) به‌صورت تصادفی برای نمونه‌برداری از خون انتخاب شدند. خونگیری با استفاده از سرنگ ۲میلی‌لیتری از رگ ساقه دمی به‌عمل آمد. جهت اندازه‌گیری پارامترهای ایمنی، خون موجود در ویال‌های فاقد ماده ضدانعقاد هپارین توسط سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده، سرم جدا و با سمپلر در ویال‌های تازه ریخته و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. مقادیر هماتوکریت به روش میکروهماتوکریت و هموگلوبین به‌روش سیان مت‌هموگلوبین اندازه‌گیری شدند. شمارش گلبول‌های قرمز و سفید با استفاده از لام نئوبار و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید براساس درصد لنفوسیت، ائوزینوفیل، نوتروفیل و مونوسیت صورت گرفت. براساس رابطه‌های ریاضی، مقادیر متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) محاسبه شدند (Klontz، ۱۹۹۴). روش توصیه شده (Ellis، ۱۹۹۰) برای اندازه‌گیری لیزوزیم و روش پیشنهادی (Yamamoto و Yonemasu، ۱۹۹۹) جهت سنجش میزان ایمنوگلوبولین M (IgM) به‌کاربرده شدند.

تجزیه‌وتحلیل آماری: مطالعه حاضر به‌صورت طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. نرمال بودن داده‌ها با آزمون Shapiro–Wilk بررسی شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها، برای مقایسه میانگین بین تیمارهای تغذیه‌ای از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و برای جداسازی گروه‌های همگن از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد. برای داده‌های غیرنرمال از آزمون غیرپارامتریک Kruskal–Wallis و در مقایسه جفتی از آزمون Mann–Whitney در سطح احتمال ۵٪ استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد.

نتایج

پارامترهای رشد و بازماندگی: نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری پارامترهای رشد ماهی کپورمعمولی تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل اسیدی‌فایر در جدول ۱ ارائه شده است. پارامترهای وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه و میانگین رشد روزانه در ماهیان تغذیه شده با سطح ۸ گرم در کیلوگرم اسیدی‌فایر نسبت به سایر تیمارهای آزمایشی بالاتر بود ($p<0/05$). پایین‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در همین سطح رویت شد که اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p<0/05$). در پارامترهای طول کل نهایی، ضریب چاقی و درصد زنده‌مانی یا بقا اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تغذیه‌ای ثبت نشد ($p>0/05$).

جدول ۱: اثرات سطوح مکمل اسیدی‌فایر بر عملکرد رشد ماهی کپورمعمولی پس از ۸ هفته تغذیه

پارامترهای رشد	سطح اسیدی‌فایر (گرم در کیلوگرم)			
	۰	۲	۴	۸
وزن اولیه (گرم)	۱۷/۶۰±۱/۱۳^{a}	۱۸/۷۳±۲/۲۰^{a}	۱۷/۷۹±۲/۱۹^{a}	۱۹/۰۹±۲/۸۲^{a}
وزن نهایی (گرم)	۳۲/۶۱±۵/۵۰^{a}	۳۳/۷۹±۴/۵۶^{a}	۳۴/۶۳±۳/۲۴^{a}	۴۳/۳۳±۶/۰۲^{b}
طول کل نهایی (سانتی‌متر)	۱۳/۴۱±۰/۶۰^{a}	۱۳/۲۹±۰/۷۸^{a}	۱۳/۵۷±۰/۸۴^{a}	۱۳/۹۳±۰/۹۷^{a}
درصد افزایش وزن بدن	۸۶/۶۱±۱۹/۳۷^{a}	۷۷/۵±۱۳/۱۵^{a}	۹۵/۲۴±۱۲/۱۴^{ab}	۱۲۶/۶۶±۲۰/۰۹^{b}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۱/۰۴±۰/۱۷^{a}	۰/۹۶±۰/۰۲^{a}	۱/۱۱±۰/۱۰^{ab}	۱/۳۶±۰/۱۵^{b}
ضریب تبدیل غذایی	۳/۱۹±۰/۷۲^{ab}	۳/۵۷±۰/۱۰^{b}	۳/۱۵±۰/۴۴^{ab}	۲/۲۳±۰/۲۸^{a}
میانگین رشد روزانه	۱/۴۴±۰/۳۲^{a}	۱/۲۹±۰/۰۴^{a}	۱/۵۹±۰/۲۰^{ab}	۲/۱۱±۰/۳۳^{b}
ضریب چاقی (٪)	۱/۳۶±۰/۱۸^{a}	۱/۴۴±۰/۱۵^{a}	۱/۳۸±۰/۰۵^{a}	۱/۶۰±۰/۰۵^{a}
درصد زنده‌مانی	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۹۰/۴۸±۱۶/۴۹^{a}	۱۰۰^{a}

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ($p<۰/۰۵$).

پارامترهای خونی: مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز و نوتروفیل در ماهیان تغذیه‌شده با سطح ۸ گرم اسیدی‌فایر بیش‌تر از سایر تیمارهای آزمایشی بود ($p<۰/۰۵$). تعداد گلبول‌های سفید اختلاف معنی‌داری رابین تیمارها نشان نداد ($p>۰/۰۵$) لیکن تیمار ۸ گرم اسیدی‌فایر واجد بیش‌ترین تعداد گلبول‌های سفید بود. ماهیان تغذیه کرده از افزودنی اسیدی‌فایر در شاخص‌های MCV و MCH افزایشی ($p>۰/۰۵$) را نسبت به شاهد نشان دادند. تعداد لنفوسیت در ماهیان تغذیه‌شده با سطح ۲ گرم اسیدی فایر نسبت به بقیه تیمارهای آزمایشی به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود ($p<۰/۰۵$). در پارامترهای تعداد مونوسیت، ائوزینوفیل و میزان MCHC اختلاف معنی‌داری بین تیمارها رؤیت نگردید ($p>۰/۰۵$) (جدول ۲).

جدول ۲: اثرات سطوح مکمل اسیدی‌فایر بر پارامترهای خونی ماهی کپورمعمولی پس از ۸ هفته تغذیه

پارامترهای خونی	سطح اسیدی‌فایر (گرم در کیلوگرم)			
	۰	۲	۴	۸
هماتوکریت (٪)	۳۱±۲/۶۵^{ab}	۲۸/۳۳±۲/۵۲^{a}	۲۸/۶۷±۰/۵۸^{a}	۳۳/۶۷±۱/۵۳^{b}
هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)	۸/۰۷±۰/۵۷^{ab}	۷/۴۰±۰/۵۶^{a}	۷/۴۷±۰/۱۵^{a}	۸/۵۳±۰/۳۱^{b}
گلبول قرمز (تعداد × $۱۰^{۶}$)	۱/۴۹±۰/۰۹^{ab}	۱/۳۶±۰/۱۶^{a}	۱/۳۴±۰/۰۱^{a}	۱/۵۹±۰/۰۳^{b}
گلبول سفید (تعداد × $۱۰^{۳}$)	۳/۴۶±۴/۰۴^{a}	۴/۱۶±۱/۴۳^{a}	۴/۰۰±۹/۱۵^{a}	۴/۵۳±۱/۶۱^{a}
MCV (فمتولیتر)	۲۰۷±۴/۳۶^{a}	۲۰۸/۳±۷/۶۴^{a}	۲۱۳±۳^{a}	۲۱۱/۳±۵/۶۹^{a}
MCH (پیکوگرم)	۵۳/۶۷±۰/۵۸^{a}	۵۴/۶۷±۲/۳۱^{a}	۵۵/۶۷±۰/۵۸^{a}	۵۳/۶۷±۰/۵۸^{a}
MCHC (٪)	۲۶±۰^{a}	۲۶±۰^{a}	۲۶±۰^{a}	۲۵/۳۳±۰/۵۸^{a}
لنفوسیت (٪)	۶۸/۳۳±۳/۷۹^{a}	۷۵±۱^{b}	۶۹/۳۳±۰/۵۸^{a}	۶۶/۶۷±۱/۵۳^{a}
مونوسیت (٪)	۳±۱^{a}	۲/۳۳±۰/۵۸^{a}	۳/۳۳±۰/۵۸^{a}	۴±۱^{a}
نوتروفیل (٪)	۲۸±۲/۶۵^{b}	۲۳/۳۳±۱/۵۳^{a}	۲۷±۱^{b}	۲۹±۱^{b}
ائوزینوفیل (٪)	۰/۶۷±۰/۵۸^{a}	۰/۳۳±۰/۵۸^{a}	۰/۳۳±۰/۵۸^{a}	۰/۳۳±۰/۵۸^{a}

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است ($p<۰/۰۵$).

پارامترهای ایمنی: جدول ۳ نتایج به‌دست‌آمده از پارامترهای ایمنی ماهی کپورمعمولی تغذیه‌شده با سطوح مختلف اسیدی‌فایر را نشان می‌دهد.افزایشی در مقادیر IgM و لیزوزیم در ماهیان تغذیه شده با سطح ۲ گرم اسیدی‌فایر نسبت به بقیه تیمارهای آزمایشی مشاهده گردید که معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$).

جدول ۳: اثرات سطوح مکمل اسیدی‌فایر بر پارامترهای ایمنی ماهی کپورمعمولی پس از ۸ هفته تغذیه

پارامترهای ایمنی	سطح اسیدی‌فایر (گرم در کیلوگرم)			
	۰	۲	۴	۸
IgM (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۹/۶۷±۱/۵۳[a]	۲۳±۸/۷۲[a]	۱۶/۳۳±۲/۳۱[a]	۱۸/۳۳±۴/۰۴[a]
لیزوزیم (میکروگرم در میلی‌لیتر)	۲۷/۳۳±۹/۰۷[a]	۳۷±۲۷/۸۸[a]	۲۵/۳۳±۶/۸۱[a]	۲۹±۱۱/۷۹[a]

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی است (p<۰/۰۵).

بحث

در مطالعه حاضر، مخلوط اسیدفرمیک، اسیدپروپیونیک و نمک‌های آن‌ها شامل آمونیوم‌فرمات و آمونیوم‌پروپیونات باعث بهبود پارامترهای رشد نظیر وزن نهایی، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی و میانگین رشد روزانه در ماهیان تغذیه شده با سطح ۸ گرم گردید. اسیدهای آلی به‌دلیل ساختمان ساده و اندازه کوچک می‌توانند به‌راحتی به‌داخل سلول نفوذ کنند(Nakai و Siebert، ۲۰۰۳). اسیدی‌فایرها نقش مثبتی در آبزی‌پروری ایفا نموده و کارایی تغذیه، عملکرد رشد و مقاومت در برابر انواع بیماری‌ها را بهبود می‌بخشند (Reda و همکاران، ۲۰۱۶). در همین راستا، نتایج مشابهی در گونه‌های مختلف آبزیان توسط محققین گزارش‌شده است. Baruah و همکاران (۲۰۰۷) اظهار داشتند که اضافه کردن ۳ درصد اسیدسیتریک و آنزیم فیتاز باعث افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه ماهی کپور هندی روهو (*Labeo rohita*) شده است. برطبق نتایج بررسی Sudagar و همکاران (۲۰۱۰)، افزودن اسیدسیتریک به‌میزان ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در کیلوگرم در جیره غذایی فیل‌ماهی (*Huso huso*) باعث افزایش معنی‌دار وزن نهایی، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت، نرخ رشد روزانه و کاهش ضریب تبدیل غذایی گردیده است. هم‌چنین نتایج یافته‌های Khajepour و Hosseini (۲۰۱۲) ثابت نمودند که جایگزینی کنجاله سویا غنی‌شده با سطح ۳۰ گرم در کیلوگرم اسیدسیتریک با پودر ماهی در جیره غذایی فیل‌ماهی سبب بروز اختلافات معنی‌داری در ضریب کارایی پروتئین، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه نسبت به تیمار شاهد شده است. در تحقیقی دیگر، تأثیر رژیم‌های غذایی با سطوح ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ گرم بر کیلوگرم مخلوط اسیدفرمیک، اسیدفسفریک، اسید سیتریک، اسیداستیک و کوپرسولفات در ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) نشان داد که کلیه تیمارها نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار داشته و سطوح ۴ و ۳ گرم بر کیلوگرم به‌ترتیب بهترین کارایی تغذیه و رشد را داشته‌اند (Sherif و Gad، ۲۰۱۳). در همین راستا، کاربرد سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد دی‌فرمات پتاسیم در ماهی تیلاپیای نیل بهبود قابل‌توجهی را در میزان مصرف خوراک، افزایش وزن بدن، کاهش ضریب تبدیل غذایی، نرخ رشد ویژه، نسبت بازده پروتئین و قابلیت هضم پروتئین در سطوح ۰/۲ و ۰/۳ درصد نسبت به تیمار شاهد نشان داد (Nermeen و Naela، ۲۰۱۴). هم‌سو با پژوهش فعلی، کاربرد اسیدبوتریک در سطوح ۲ و ۱/۵ گرم به‌ترتیب باعث افزایش عملکرد رشد و کارایی تغذیه در گربه‌ماهی (*Clarias gariepinus*) و تیلاپیای نیل شده است (Omosowone و همکاران، ۲۰۱۸). اسیدهای آلی از یک‌سو سبب کاهش pH معده و روده شده درنتیجه گروه‌های معدنی شکل یافته و به‌راحتی می‌توانند جذب شوند (Pandey و Satoh، ۲۰۰۸) و از سوی دیگر رشد باکتری‌های بیماری‌زا را ازطریق تجزیه‌اسیدها در سلول باکتری محدود می‌کنند (Luckstadt، ۲۰۰۸). به‌نظر می‌رسد اسیدی-فایرها با تحریک ترشح آنزیم پپسین، قابلیت هضم و جذب مواد غذایی به‌ویژه پروتئین‌ها را ارتقا داده و سبب افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل غذایی شده که درنهایت موجب عرضه سریع‌تر آبزیان پرورشی به بازار مصرف می‌شوند (Reda و همکاران، ۲۰۱۶). برخلاف یافته‌های مطالعه حاضر، در آبزیانی نظیر قزل‌آلای رنگین‌کمان (Pandey و Satoh، ۲۰۰۸)، میگو سفید غربی (*Litopenaeus vannamei*) (Anuta و همکاران، ۲۰۱۱)، گربه‌ماهی زرد (*Pelteobagrus fulvidraco*)(Zhu و همکاران، ۲۰۱۴) و کلمه خزری (*Rutilus caspicus*) (مازندرانی و همکاران، ۱۳۹۷) هیچ اثر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد و فلور روده در اثر افزودن اسیدی فایرها به جیره غذایی گزارش نشد. مناسب نبودن سطوح و ترکیب اسیدهای آلی به‌کار رفته در جیره، عملکرد دستگاه گوارش و خصوصیات فردی گونه‌های آبزیان به‌عنوان مهم‌ترین عوامل عدم کارایی اسیدی فایرها و ترکیبات مشتق شده از آن‌ها بر آبزیان بیان شده است.

مطالعه فاکتورهای خونی یکی از عوامل مهم در ارزیابی سلامت ماهیان و کیفیت جیره غذایی مصرف شده می‌باشد (Schutt و همکاران، ۱۹۹۷). اطلاعات کمی در مورد تأثیر اسیدهای آلی بر پارامترهای خونی و ایمنی ماهیان در اختیار می‌باشد. در مطالعه حاضر، افزایش معنی‌داری در مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز در ماهیان تغذیه شده با اسیدی‌فایر در سطح ۸ گرم نسبت به بقیه تیمارها مشاهده گردید. اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه بوده و ورود این اسیدهای چرب به روده سبب

افزایش جریان خون می‌شود (Cherbut و همکاران، ۱۹۹۷). عواملی نظیر گونه آبزی، فصل، نوسانات دمایی و میزان اکسیژن محلول بر تعداد گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین اثرگذارند. گلبول‌های قرمز در انتقال اکسیژن در بدن نقش مهمی ایفا کرده و تغییرات منفی در تعداد و عملکرد آن‌ها بر سوخت‌وساز بدن تأثیر می‌گذارد (Klontz، ۱۹۹۴). هم‌سو با نتایج فعلی، سطوح ۱ و ۲ گرم در کیلوگرم ترکیب اسید فرمیک، اسیدپروپیونیک و نمک پروپیونات کلسیم سبب افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های قرمز و میزان هموگلوبین در تیلاپیای نیل گردید (Reda و همکاران، ۲۰۱۶). در همین راستا، بهبود معنی‌داری در میزان هماتوکریت و هموگلوبین کپور هندی روهو (*Labeo rohita*) تغذیه‌شده با سطح ۳٪ اسیدسیتریک به‌دست آمد (Baruah و همکاران، ۲۰۰۷). در تضاد با بررسی حاضر، سلیمانی‌ایرایی و همکاران (۱۳۹۱) پی بردند که سطح ۰/۱ درصد مکمل اسید فرمیک، اسیدسیتریک، اسیدیمالیک، اسیدارتوفسفریک، اسیدلاکتیک و اسیدتارتاریک تأثیری در تعداد گلبول‌های قرمز، مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت نداشته است اگرچه روند افزایشی در ماهیان تغذیه شده با مکمل اسیدی رؤیت شد. نتایج یکسان دیگری در ماهیان زینتی اسکار تایگر (*Astronotus ocellatus*) تغذیه شده با ترکیب اسیدهای آلی بایوترونیک (حدیدی و طاعتی، ۱۳۹۵)، ماهیان کپور تغذیه کرده از نمک پروپیونات سدیم (صفری و همکاران، ۱۳۹۶) و تیلاپیای نیل تغذیه شده با دی‌فرمات پتاسیم (Lim و همکاران، ۲۰۱۰) درخصوص شاخص‌های مذکور به‌دست آمد. علت اختلاف در مطالعات فوق، متفاوت بودن واکنش‌های خونی به سطوح متفاوت ترکیب اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها به‌خاطر ویژگی‌های فیزیولوژیک خاص هرگونه و هم‌چنین طول مدت زمان آزمایش جهت بروز تفاوت‌های خونی می‌تواند باشد.

گلبول‌های سفید جزء کلیدی بسیار مهم در واکنش‌های ایمنی غیراختصاصی بوده و می‌توانند عملکرد ایمنی و مقاومت در برابر انواع بیماری‌ها را تنظیم نمایند. هم‌بستگی مستقیمی بین تعداد گلبول‌های سفید و شدت عفونت در جانوران وجود دارد (Ballarin و همکاران، ۲۰۰۴). کپور ماهیان تغذیه شده با هر سه سطح اسیدی‌فایر در تحقیق حاضر، واجد بیش‌ترین تعداد گلبول‌های سفید بودند که البته اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. هم‌چنین تعداد لنفوسیت در ماهیان تغذیه شده با سطح ۲ گرم مکمل اسیدی‌فایر نسبت به بقیه گروه‌ها به‌طور معنی‌داری بیش‌تر بود. افزایش تعداد لنفوسیت می‌تواند بسیار خوب باشد زیرا این دسته از سلول‌ها آنتی‌بادی تولید کرده و سیستم دفاعی بدن‌ماهی را در برابر انواع عفونت‌ها تقویت می‌نمایند (Jalali و همکاران، ۲۰۰۹). در موافقت با پژوهش حاضر، طبق اظهارنظر Reda و همکاران (۲۰۱۶) افزایش معنی‌داری در تعداد لنفوسیت‌های تیلاپیای نیل به‌دست آمد. در عوض، تعداد گلبول‌های سفید ماهی قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه کرده از ۶ نوع اسید آلی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (سلیمانی‌ایرایی و همکاران، ۱۳۹۱). نتیجه مشابهی هم در تغذیه ماهیان کپور با نمک پروپیونات سدیم در تعداد گلبول‌های سفید توسط صفری و همکاران (۱۳۹۶) گزارش گردید.

در پژوهش حاضر، علی‌رغم عدم وجود تفاوت معنی‌دار، ماهیان تغذیه شده با سطح ۲ گرم اسیدی‌فایر در مقادیر لیزوزیم و IgM افزایشی را نسبت به شاهد نشان دادند. در مطابقت کامل با یافته‌های فعلی، حدیدی و طاعتی (۱۳۹۵) نیز افزایشی را در مقادیر لیزوزیم و IgM در ماهی زینتی اسکار تغذیه‌شده با اسیدفرمیک، اسیدپروپیونیک و نمک‌های آن‌ها گزارش نمودند. Reda و همکاران (۲۰۱۶) اشاره کردند که میزان لیزوزیم در تیلاپیای نیل تغذیه شده با اسیدی‌فایر در مدت زمان ۱۵ روز افزایش یافت ولی پس از یک ماه میزان آن سیر نزولی اندکی داشت. با توجه به این‌که طول مدت آزمایش می‌تواند بر فاکتورهای خونی و واکنش‌های ایمنی تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای داشته باشد با افزایش مدت زمان پرورش داده‌های خونی و ایمنی می‌توانند احتمالاً معنی‌دار شوند. اگرچه در برخی پارامترهای خونی و ایمنی اختلاف معنی‌داری ثبت نگردید لیکن بهبود و پیشرفتی در مقادیر آن‌ها در ماهیان تغذیه‌شده با اسیدی‌فایر در قیاس با جمعیت شاهد به‌دست آمد. باعنایت به یافته‌های این تحقیق، افزودن مکمل اسیدهای آلی به جیره غذایی ماهی پرورشی و اقتصادی کپور پیشنهاد می‌گردد چون باعث ارتقاء عملکرد رشد و بهبود بسیاری از پارامترهای خونی و ایمنی شده است. اختلافات در نتایج سایر مطالعات می‌تواند به‌دلیل گونه آبزی، طول دوره و شرایط پرورش، کمیت و کیفیت مواد اولیه جیره غذایی، ترکیب اسیدهای آلی و میزان سطح به‌کار رفته باشد. با توجه به کمبود اطلاعات در زمینه تأثیرات اسیدهای آلی بر پارامترهای خون و به‌خصوص سیستم ایمنی نیاز به تحقیقات بیش‌تر در آینده اجتناب ناپذیر می‌باشد.

تقدیر وتشکر

از آقایان دکتر عباسعلی زمینی، مهندس حسین ثابت‌مند و مهدی ملکی به‌دلیل همکاری‌های ارزشمندشان در این تحقیق صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. **حدیدی، س. و طاعتی، ر.، ۱۳۹۵.** تأثیر سطوح مختلف مکمل اسیدی فایر بایوترونیک بر کارایی تغذیه و برخی از پارامترهای خونی و ایمنی ماهی اسکار تایگر (*Astronotus ocellatus*). مجله دامپزشکی ایران. دوره ۱۲، شماره ۳. صفحات ۳۲ تا ۴۱.

۲. **صفری، ر.؛ نژادمقدم، ش.؛ حسینی‌فر، س.ح. و جافرنوده، ع.، ۱۳۹۶.** بررسی تأثیر سطوح مختلف نمک پروپیونات سدیم جیره غذایی بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). فصلنامه محیط زیست جانوری. سال ۹، شماره ۳. صفحات ۲۰۳ تا ۲۱۰.

۳. **فلاحتکار، ب.؛ عبدی، ح. و محمودی، ن.، ۱۳۹۱.** نقش تغذیه ای نوکلئوتید بر منابع انرژی بدن و عملکرد رشد ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران. سال ۲۱، شماره ۱. صفحات ۱۳۳ تا ۱۴۶.

۴. **مازندرانی، م.؛ سوداگر، م.؛ جعفری، و.ا.؛ جافرنوده، ع.؛ بشی، ف. و سرپناه، ع.ن.، ۱۳۹۷.** اثرات اسید پروپیونیک خوراکی بر شاخص‌های رشد و مقاومت در برابر استرس شوری در کلمه خزری (*Rutilus caspicus*). مجله آبزیان زینتی. سال ۵، شماره ۱، صفحات ۱ تا ۸.

۵. **Abu Elala, N.M. and Ragaa, N.M., 2015.** Eubiotic effect of a dietary acidifier (potassium diformate) on the health status of cultured *Oreochromis niloticus*. Journal of Advanced Research. Vol. 6, pp: 621-629.

۶. **Anuta, J.D.; Buentello, A.; Patnaik, S.; Lawrence, A.L.; Mustafa, A.; Hume, M.E.; Gatlin, D.M. and Kemp, M.C., 2011.** Effect of dietary supplementation of acidic calcium sulfate (Vitoxal) on growth, survival, immune response and gut microbiota of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 42, pp: 834-844.

۷. **Ballarin, L.; Dall'Oro, M.; Bertotto, D.; Libertini, A.; Francescon, A. and Barbaro, A., 2004.** Haematological parameters in *Umbrina cirrosa* (Teleostei, Sciaenidae): a comparison between diploid and triploid specimens. Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Molecular and Integrative Physiology. Vol. 138, pp: 45-51.

۸. **Baruah, K.; Sahu, N.P.; Pal, A.K.; Jain, K.K.; Debnath, D. and Mukherjee, S.C., 2007.** 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.

۹. **Celik, K.; Ersoy, I.E.; Uzatici, A. and Erturk, M., 2003.** The using of organic acids in California turkey chicks and its effects on performance before pasturing. International Journal of Poultry Science. Vol. 2, No. 6 pp: 446 - 448.

۱۰. **Cherbut, C.; Aube, A.; Blottiere, H. and Galmiche, J., 1997.** Effects of short-chain fatty acids on gastrointestinal motility. Scandinavian Journal of Gastroenterology Supplement. Vol. 222, pp: 58-61.

۱۱. **Da Silva, B.C.; Vieira, F.D.N.; Mourino, J.L.P.; Ferreira, G.S. and Seiffert, W.Q., 2013.** Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. Aquaculture. Vol. 384-387, pp: 104-110.

۱۲. **Defoirdt, T.; Boon, N.; Sorgeloos, P.; Verstraete, W. and Bossier, P., 2009.** Short-chain fatty acids and poly-b hydroxyalkanoates: (New) Biocontrol agents for a sustainable animal production. Biotechnology Advances. Vol. 27, pp: 680-685.

۱۳. **Devasree, L.D.; Binuramesh, C. and Michael, R.D., 2014.** Immunostimulatory effect of water soluble fraction of *Nyctanthes arbortristis* leaves on the immune response in *Oreochromis mossambicus* (Peters). Aquaculture Research. Vol. 45, pp: 1581-1590.

۱۴. **Ellis, A.E., 1990.** Lysozyme assays. In: Techniques in Fish Immunology. Edited by JS Stolen; DP Fletcher; BS Anderson and WB Van Muiswinkel. SOS Publication. USA. pp: 101-103.

۱۵. **Heuer, O.E.; Kruse, H.; Grave, K.; Collignon, P.; Karunasagar, I. and Angulo, F.J., 2009.** Human health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture. Clinical Infectious Diseases. Vol. 49, pp: 1248-1253.

۱۶. **Hossain, M.R.; 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.

۱۷. **Jalali, M.A.; Ahmadifar, E.; Sudagar, M. and Takami, G.A., 2009.** Growth efficiency, body composition, survival and haematological changes in great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juveniles fed diets supplemented with different levels of Ergosan. Aquaculture Research. Vol. 40, pp: 804-809.

۱۸. **Khajepour, F. and Hosseini, S., 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.

۱۹. **Klinger, D. and Naylor, R., 2012.** Searching for solutions in aquaculture: Charting a sustainable course. Annual Review of Environment and Resources. Vol. 37, pp: 247-276.

۲۰. **Klontz, G.W., 1994.** Fish hematology. In: Techniques in fish immunology. Edited by JS Stolen; TC Fletcher; AF Rowley; TC Kelikoff; SL Kaatari and SA Smith. SOS Publications. Fair Haven, New Jersey, USA. Vol. 3, pp:121-132.

۲۱. **Kotzamanis, Y.P; Gisbert, E.; Gatesoupe, F.J.; Zambonino Infante, J. and Cahu, C., 2007.** Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular and Integrative Physiology. Vol. 147, pp: 205-214.

۲۲. **Lim, C.; Klesius, P.H. and Luckstadt, C., 2010.** Effects of dietary levels of potassium diformate on growth, feed utilization and resistance to *Streptococcus iniae* of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. In: Abstract in Proceedings of the 14th International Symposium on Fish Nutrition and Feeding. Qingdao, China. 170 p.

۲۳. **Luckstadt, C., 2008.** The use of acidifiers in fish nutrition. Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources. Vol. 3, No. 44, pp: 1-8.

۲۴. **Luo, G.; Xu, J.; Teng, Y.; Ding, C. and Yan, B., 2010.** Effects of dietary lipid levels on the growth, digestive enzyme, feed utilization and fatty acid composition of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) reared in freshwater. Aquaculture Research. Vol. 41, pp: 210-219.

۲۵. **Mortazavi Tabrizi, J.; Barzeghar, A.; Farzampour, S.; Mirzaii, H. and Safarmashaei, S., 2012.** Study of the effect of prebiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) and acidifier on growth parameters in grower's rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Annals of Biological Research. Vol. 3, No. 5, pp: 2053-2057.

۲۶. **Nakai, S.A. and Siebert, K.J., 2003.** Validation of bacterial growth inhibition models based on molecular properties of organic acid. International Journal of Food Microbiology. Vol. 86, pp: 249-255.

۲۷. **Nermeen, M. and Naela, M., 2014.** Eubiotic effect of a dietary acidifier (potassium diformate) on the health status of

cultured *Oreochromis niloticus*. Journal of Advanced Research. Vol. 6, No. 4, pp: 621-629.

۲۸. **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, (*Oreochromis* sp.) and subsequent survival during a challenge test with *Streptococcus agalactiae*. Aquaculture Research. Vol. 40, pp: 1490-1500.

۲۹. **Omosowone, O.O.; Dada, A.A. and Adeparusi, E.O., 2018.** Comparison of dietary butyric acid supplementation effect on growth performance and body composition of *Clarias gariepinus* and *Oreochromis niloticus* fingerlings. Iranian Journal of Fisheries Sciences. Vol. 17, No. 2, pp: 403-412.

۳۰. **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.

۳۱. **Reda, R.M.; Mahmoud, R.; Khaled M.; Selim, K.M. and El-Araby, I.E., 2016.** Effects of dietary acidifiers on growth, hematology, immune response and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 50, pp: 255-262.

۳۲. **Schütt, D.A.; Lehmann, J.; Goerlich, R. and Hamers, R., 1997.** Haematology of swordtail, *Xiphophorus helleri*. I: Blood parameters and light microscopy of blood cells. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 13, pp: 83-89.

۳۳. **Selim, K.M. and Reda, R.M., 2015.** Beta-glucans and mannan oligosaccharides enhance growth and immunity in Nile tilapia. **North** American Journal of Aquaculture. Vol. 77, pp: 22-30.

۳۴. **Sherif, A.H. and Gad, M.D., 2013.** Studies on the effect of acidifier on cultured *Oreochromis niloticus* fish. Journal of the Arabian Aquaculture Society. Vol. 8, No. 1, pp: 229-236.

۳۵. **Su, X.; Li, X.; Leng, X.; Tan, C.; Liu, B.; Chai, X. and Guo, T., 2014.** The improvement of growth, digestive enzyme activity and disease resistance of white shrimp by the dietary citric acid. Aquaculture International. Vol. 22, pp: 1823-1835.

۳۶. **Sudagar, M.; Hosseinpoor, Z. and 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. Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation International Journal of the Bioflux Society. Vol. 3, pp: 311-316.

۳۷. **Vielma, J. and Lall, S., 1997.** Dietary formic acid enhances apparent digestibility of minerals in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Nutrition. Vol. 3, pp: 265-268.

۳۸. **Yamamoto, T. and Yonemasu, K., 1999.** Multiple molecular forms of serum immunoglobulin M in a patient with Waldenstrom's macroglobulinemia. Clinica Chimica Acta. Vol. 289, pp: 173-176.

۳۹. **Zhou, Z.; Liu, Y.; He, S.; Shi, P.; Gao, X.; Yao, B. and Ringø, E., 2009.** Effects of dietary potassium diformate (KDF) on growth performance, feed conversion and intestinal bacterial community of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ×*O. aureus*). Aquaculture. Vol. 291, pp: 89-94.

۴۰. **Zhu, Y.; Qiu, X.; Ding, Q.; Duan, M. and Wang, C., 2014.** Combined effects of dietary phytase and organic acid on growth and phosphorus utilization of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. Aquaculture. Vol. 430. pp: 1-8.