15(1) 167-172, Spring 2023

Journal of Animal Environment

(AEJ)

Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

The effect of citric acid on growth and blood parameters of goldfish (*Carassius auratus*)

Reza Nahavandi [1], Saeid Tamadoni Jahromi [2*], Siamak Behzadi [2], Ali Sadeghi [3], Sajjad Pormozaffar [4*], Mohammad Khalil Pazir [5], Mohsen Gozari [2], Maryam Moezzi [2]

[1]Animal Science Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran

[2]Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Bandar Abbas, Iran

[3]Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

[4]Persian Gulf Mollusks Research Station, Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Bandar-e-Lengeh, Iran

[5]Iranian Shrimp Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Bushehr, Iran

Key Words

Goldfish
Citric acid
Growth parameters
Blood parameters

Abstract

Introduction: The effects of citric acid on the growth and blood indices of goldfish fry (*Carassius auratus*) were examined in a 60-day period.

Materials and Methods: The goldfish fries (with initial weight of 7.10±0.16 g) were randomly categorized into four experimental treatments with three replications (25 fish/tank). The treatments included a control three groups of 1, 2, and 3 g citric acid per each kilogram of food ration.

Results: The results indicated that the growth parameters: The final weight, weight increase, specific growth rate, and condition factor in the citric acid groups had a significant increase compared to the control group ($P<0.05$). In addition, blood indices in the experimental treatment indicated that the red blood cell count and hemoglobin and hematocrit levels in the citric acid treatments had a significant increase compared to the control group ($P<0.05$).

Conclusion: In general, adding citric acid at 2 g/kg of the diet of goldfish fry improved the growth parameters and blood indices.

* Corresponding Author's email: sajjad5550@gmail.com, stamadoni@gmail.com

Received: 31 January 2022; Reviewed: 6 March 2022; Revised: 8 May 2022; Accepted: 10 June 2022

(DOI): 10.22034/AEJ.2022.340371.2802

مقاله پژوهشی

تاثیر سیتریک اسید بر شاخص‌های رشد و شاخص‌های خونی بچه‌ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

رضا نهاوندی[1]، سعید تمدنی جهرمی[2*]، سیامک بهزادی[2]، علی صادقی[3]، سجاد پورمظفر[4*]، محمدخلیل پذیر[5]، محسن گذری[2]، مریم معزی[2]

[1] موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

[2] پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. بندرعباس، ایران

[3] گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، گرگان، ایران

[4] ایستگاه تحقیقات نرمتنان خلیج فارس، پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. بندرلنگه، ایران

[5] پژوهشکده میگوی کشور، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. بوشهر، ایران

کلمات کلیدی

ماهی قرمز
سیتریک اسید
شاخص‌های رشد
شاخص‌های خونی

چکیده

مقدمه: مطالعه حاضر به‌منظور بررسی اثرات سیتریک اسید بر عملکرد رشد و شاخص‌های خونی بچه‌ماهی قرمز (*Carassius auratus*) به‌مدت ٦٠ روز انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: بچه‌ماهیان (با میانگین وزن اولیه ۰/۱۶± ۷/۱۰ گرم) در یک طرح کاملاً تصادفی به ٤ تیمار آزمایشی و ۳ تکرار (۲۵ قطعه در هر تانک) تقسیم شدند. تیمارها شامل شاهد (بدون استفاده از سبتریک اسید) و مقادیر ۱، ۲ و ۳ درصد سیتریک اسید به‌ازای هر کیلوگرم جیره، بود.

نتایج: نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که شاخص‌های رشد شامل: وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در تیمارهای حاوی سیتریک اسید افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است ($p<0/05$). هم‌چنین بررسی شاخص‌های خونی در تیمارهای آزمایش نشان داد که تعداد گلبول قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت در تیمارهای حاوی سیتریک اسید افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است ($p<0/05$).

بحث و نتیجه‌گیری: در کل، نتایج این مطالعه نشان داد افزودن سیتریک اسید به جیره غذایی به‌میزان ۲ گرم در هر کیلوگرم جیره غذایی بچه‌ماهی قرمز سبب بهبود شاخص‌های رشد و شاخص‌های خونی گردید.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: sajjad5550@gmail.com، stamadoni@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۱ بهمن ۱۴۰۰؛ تاریخ داوری: ۱۵ اسفند ۱۴۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۱۸ اردیبهشت ۱۴۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۲۰ خرداد ۱۴۰۱
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.340371.2802

مقدمه

با توجه به وضعیت صید در جهان، که عمده ذخایر ماهیان بهره‌برداری شده‌اند و هیچ توان بالقوه‌ای برای افزایش تولید ندارند، نیازهای آینده برای محصولات دریایی و شیلات تنها می‌تواند با افزایش تولیدات آبزی‌پروری برآورده شود. آبزی‌پروری به‌شدت و به‌طور قابل ملاحظه‌ای به مواد مغذی که به‌عنوان خوراک برای تولید موثر آبزیان پرورشی استفاده می‌شوند وابسته است. یکی از راهبردها برای بهبود عملکرد و سلامت ماهیان، استفاده از مکمل‌های غذایی مانند اسید آمینه، آنتی‌بیوتیک و اسیدهای آلی جهت کاهش ضریب تبدیل غذایی است (۱). افزودنی‌های غذایی اجزای غیرمغذی هستند که در فرموله کردن جیره برای تاثیرگذاری بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خوراک، در جهت بهبود عملکرد آبزیان درنظر گرفته می‌شوند (۲). استفاده از آنتی‌بیوتیک در تغذیه ماهی رشد، ضریب تبدیل غذایی و نرخ بقای آن‌ها را بهبود می‌بخشد. با این وجود استفاده از آنتی‌بیوتیک باعث ایجاد مقاومت در برابر میکروب‌های بیماری‌زا می‌شوند. بنابراین محققان روی افزودنی‌های جایگزین مانند اسیدهای آلی، گیاهان دارویی، آنزیم‌ها و اسانس‌ها تمرکز کرده‌اند، ازجمله اسیدهای آلی زنجیره کوتاه و نمک‌هایشان که به‌دلیل اثرات مفید در نگه‌داری و حفظ خوراک و به‌عنوان مکمل غذایی حیوانات توجه خاص محققان را به خود جلب کرده‌اند (۳). موفقیت استفاده از اسیدهای آلی در عملکرد ماهیان به‌شدت متغیر است و به عوامل بسیاری ازجمله گونه ماهی، سن، انواع و سطوح اسیدهای آلی مورد استفاده بستگی دارد. اسیدهای آلی، دسته‌ای از ترکیبات کربوکسیل‌دار یا ساختار کلی (R-COOH) هستند که با گروه فعال (COOH) که به یک گروه آلی و یا اتم هیدروژن متصل است، از دیگر اسیدها متمایز می شوند (۴). از بین این ترکیبات، آن‌هایی که بین ۱ تا ۷ اتم کربن دارند، دارای اثرات ضد میکروبی هستند (۵). بسیاری از این ترکیبات به شکل نمک‌های سدیم، پتاسیم و کلسیم در دسترس هستند. مزیت نمک‌ها نسبت به اسیدها این است که عموماً بی بو بوده و در فرآیند ساخت خوراک به‌علت شکل جامد و فرار بودن کم‌تر آن‌ها، راحت‌تر به‌کار برده می‌شوند. خوردگی این ترکیبات نیز کم‌تر و حلالیت آن‌ها در آب بیش‌تر است (۶). اسیدهای آلی و نمک‌هایشان می‌توانند به‌منظور حفظ سلامت و عملکرد حیوان و هم‌چنین برای کاهش عوامل رشد آنتی‌بیوتیکی به‌کار برده شوند. مزایای اقتصادی با کاهش هزینه خوراک و زمان کوتاه‌تر برای عرضه محصول به بازار حاصل می‌شود. علاوه بر این، اسیدها و نمک‌ها رشد میکروبی در خوراک و نیز مجرای روده‌ای را کاهش می‌دهند. کاهش کلی میکروفلور روده، نیاز سوخت و سازی و مواد مغذی ایجاد شده توسط باکتری را کاهش می‌دهد که این امر خود موجب بازده بالاتر خوراک و بهبود افزایش وزن روزانه می‌شود. در تغذیه حیوانات، اسیدی‌کننده‌ها از طریق سه روش مختلف تاثیر بر تغذیه، مجرای روده‌ای و سوخت و ساز جانور، اعمال می‌کنند (۷). اسیدهای آلی سبب کاهش جمعیت ریز موجودات بیماری‌زا و سموم آلی از طریق جیره توسط آبزی شده و مدت زمان نگه‌داری خوراک را افزایش می‌دهند. ازجمله فعالیت اسیدهای آلی کاهش pH دستگاه گوارش است. این اسیدها به‌صورت تفکیک نشده از غشای لیپیدی باکتری و قارچ‌ها عبور می‌کنند. در داخل سلول باکتری، تفکیک شده و باعث آزاد شدن یون‌های هیدروژن و بی‌کربنات در سیتوپلاسم سلول شده و با افزایش اسیدیته، سلول باکتری را مجبور می‌کنند تا برای توازن طبیعی اسیدیته، انرژی مصرف کند. از طرف دیگر، یون RCOO نیز موجب توقف یا کاهش ساختن DNA و پروتئین شده و در مجموع، رشد باکتری کاهش می‌یابد. درنتیجه این تغییرات، رشد باکتری‌های بیماری‌زا محدود شده که این پدیده باعث بالا رفتن سلامت دستگاه گوارش می‌شود. هم‌چنین، اسیدهای آلی باعث تغییر در ریخت‌شناسی دیواره روده و کاهش پرگنه باکتری‌های بیماری‌زا می‌شوند. اسیدهای آلی شامل اسیدفرمیک، اسیداستیک، پروپیونیک و اسیدسیتریک از اسیدهای آلی متداولی هستند که در جیره غذایی آبزیان استفاده شده‌اند (۸). مطالعات زیادی در رابطه با استفاده از اسیدهای آلی در آبزیان وجود دارد که نتایج متفاوتی بیان کردند. برخی از پژوهشگران بیان کردند که استفاده از اسیدهای آلی می‌تواند سبب افزایش رشد و تحریک ایمنی در آبزیان شود و برخی عدم تاثیر اسیدهای آلی بر رشد و ایمنی را گزارش کردند. Jafarnodeh و همکاران، بیان کردند که افزودن ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازیی به جیره غذایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) تاثیرات مثبتی بر رشد دارد (۹). Hadidi و Taati، اظهار نمودند که مکمل اسیدی فایر بایوترونیک در سطح ۸ گرم در کیلوگرم در تقویت کارایی تغذیه و نیز بهبود برخی از شاخص‌های خونی و ایمنی بچه‌ماهیان اسکار تاثیر داشته است (۱۰). هم‌چنین استفاده از سدیم دی فرمات در جیره، قابلیت هضم مواد مغذی، قابلیت هضم مواد غذایی، اسیدهای آمینه و کیفیت فیزیکی پروتئین غله جو را در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بهبود می‌بخشد (۱۱). اسیدسیتریک یک اسید آلی ضعیف است که به‌عنوان محافظت کننده و نگه‌دارنده طبیعی مواد غذایی محسوب می‌شود و قادر است در ترکیب شدن با مواد معدنی رقابت کند و آن را برای ماهی قابل دسترس کند (۱۲). با توجه به کاربرد اسیدسیتریک در اثر بخشی جیره غذایی و نیز افزایش مطلوب عملکرد سیستم گوارشی هدف این مطالعه بررسی تاثیر سیتریک اسید بر پارامترهای رشد و شاخص‌های خونی بچه‌ماهی قرمز (*Carassius auratus*) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ماهی و شرایط پرورش: تعداد ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی قرمز (*Carassius auratus*) با وزن اولیه ۰/۱۶±۷/۱۰ گرم از مرکز تکثیر ماهی قرمز از شهر رشت تهیه و به محل اجرای پروژه منتقل گردید. ماهیان به‌مدت ۱۴ روز به‌منظور سازش با شرایط جدید نگه‌داری شدند و پس از طی مراحل سازش به‌صورت تصادفی در وان‌های ۳۰۰ لیتری تقسیم شدند. در آزمایش حاضر ۴ تیمار با ۳ تکرار شامل جیره شاهد (فاقد سیتریک اسید)، تیمار دوم جیره حاوی ۱ گرم درصد سیتریک‌اسید، تیمار سوم حاوی ۲ گرم درصد سیتریک اسید و تیمار چهارم حاوی ۳ گرم سیتریک اسید به‌ازای هر کیلوگرم جیره غذایی بود (۱۳). در هر تکرار ۲۵ قطعه بچه‌ماهی قرمز استفاده شد. غذادهی ماهیان به‌صورت دستی و روزانه در ۳ نوبت (ساعات ۹، ۱۲ و ۱۵) انجام شد. تعویض آب روزانه صورت گرفت. به‌منظور هوادهی و رفع نیاز اکسیژن ماهی‌ها، به هریک از وان‌ها یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود نصب شد. طول دوره آزمایش ۶۰ روز بود.

آماده‌سازی جیره: به‌منظور اضافه کردن سطوح مختلف مکمل به جیره پایه، ابتدا مقدار جیره برای کل دوره آزمایش (۶۰ روز) برای هر تیمار محاسبه شد و سپس اسیدسیتریک با درصد مشخصی روی جیره اسپری شد (۱۴). به‌منظور غذادهی ماهیان آزمایش از غذای کنسانتره تجاری ماهی کپور (شرکت فرادانه) با آنالیز تقریبی ۴۰ درصد پروتیین خام، ۶ درصد چربی خام و ۵ درصد فیبر خام استفاده شد.

زیست‌سنجی و بررسی شاخص‌های رشد: در پایان آزمایش پس از ۲۴ ساعت گرسنگی، بچه‌ماهیان موجود در هر تکرار بی‌هوش شده و به‌منظور سنجش شاخص‌های رشد، طول و وزن آن‌ها برای محاسبه افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، شاخص وضعیت و بازماندگی از طریق معادلات زیر محاسبه گردید (۱۵، ۱۶).

افزایش وزن بدن = میانگین وزن نهایی- میانگین وزن ابتدایی

نرخ رشد ویژه (٪)= [(لگاریتم طبیعی وزن نهایی- لگاریتم طبیعی وزن ابتدایی) × (طول دوره پرورش)] × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی=میانگین غذای خورده شده×(میانگین وزن به‌دست آمده)

شاخص وضعیت= [(وزن نهایی (گرم) / طول^3 (سانتی متر)] × ۱۰۰

بازماندگی(٪)=[(تعداد تلفات-تعداد کل ماهیان)×تعداد کل ماهیان]×۱۰۰

بررسی شاخص‌های خونی: در پایان دوره آزمایش، بعد از ۲۴ ساعت گرسنگی تعداد ۵ ماهی از هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب شد. به‌منظور خونگیری ابتدا ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک به میزان ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بی‌هوش شده، سپس از ناحیه ساقه دمی با استفاده از سرنگ‌های هپارینه خونگیری شدند و سپس پارامترهای هماتولوژیکی شامل هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد کل گلبول‌های سفید، تعداد کل گلبول‌های قرمز، حجم متوسط گلبول قرمز، متوسط وزن هموگلوبین در یک گلبول قرمز و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز اندازه‌گیری شد (۱۷).

تعداد گلبول قرمز÷(۱۰×هماتوکریت)= حجم متوسط گلبول قرمز

تعداد گلبول قرمز÷(۱۰×هموگلوبین)=وزن هموگلوبین در یک گلبول قرمز

هماتوکریت÷(۱۰۰×هموگلوبین)= غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و شاخص‌های خونی با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس از آزمون مقایسه چند دامنه‌ای دانکن، در سطح اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارهای مختلف صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 16 در محیط ویندوز و از نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 استفاده شد.

نتایج

جدول ۱ شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های مختلف در پایان دوره آزمایش را نشان می‌دهد. نتایج آزمایش نشان داد که وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت بین تیمار شاهد (تیمار ۱) با تیمارهای حاوی سیتریک اسید (تیمار ۲، ۳ و ۴) اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). با این‌حال شاخص‌های رشد (وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت) در بین تیمارهای حاوی سیتریک اسید (تیمارهای ۲، ۳ و ۴) دارای اختلاف معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). میزان بازماندگی و ضریب تبدیل غذایی بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی سیتریک اسید اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد(P>۰/۰۵). جدول ۲ شاخص‌های خونی بچه ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های مختلف در پایان دوره آزمایش را نشان می‌دهد. تعداد گلبول‌های سفید، وزن هموگلوبین در یک گلبول قرمز، حجم متوسط گلبول قرمز و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز اختلاف معنی‌داری در بین تیمارهای مختلف نشان نداد (P>۰/۰۵). میزان هموگلوبین در تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی سیتریک اسید (تیمار ۲، ۳ و ۴) نسبت به جیره شاهد (تیمار ۱) اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان هموگلوبین در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمارهای تغذیه شده با ۳ گرم سیتریک اسید (۰/۱۸±۶/۰۳) بود و کم‌ترین میزان هموگلوبین در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمار شاهد (۰/۱۹±۴/۳۱) بود. تعداد گلبول قرمز در تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی سیتریک اسید (تیمار ۲، ۳ و ۴) نسبت به جیره شاهد (تیمار ۱) اختلاف معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز در بین

تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمارهای تغذیه شده با ۳ گرم سیتریک اسید (۱/۶۰±۰/۰۴) بود و کم‌ترین تعداد گلبول قرمز در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمار شاهد (۱/۳۶±۰/۰۴) بود. میزان هماتوکریت در تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی سیتریک اسید (تیمار ۲، ۳ و ۴) نسبت به جیره شاهد (تیمار ۱) اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<0/05$). بیش‌ترین میزان هماتوکریت در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمارهای تغذیه شده با ۲ گرم سیتریک اسید (۴۱/۶۰±۱/۱۷) بود و کم‌ترین میزان هماتوکریت در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمار شاهد (۳۲/۷۶±۱/۳۱) بود.

جدول ۱: مقایسه شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های حاوی غلظت‌های مختلف سیتریک اسید (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص های رشد	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲ (۱ گرم سیتریک اسید)	تیمار ۳ (۲ گرم سیتریک اسید)	تیمار ۴ (۳ گرم سیتریک اسید)
وزن اولیه (گرم)	۷/۱۰ ± ۰/۱۲	۷/۱۲ ± ۰/۱۹	۷/۰۸ ± ۰/۲۰	۷/۱۱ ± ۰/۱۱
وزن نهایی (گرم)	۱۵/۱۰ ± ۱/۱۸^{b}	۲۰/۰۰ ± ۱/۳۹^{a}	۲۲/۲۰ ± ۱/۲۲^{a}	۲۱/۹۱ ± ۱/۴۳^{a}
افزایش وزن (گرم)	۸/۱۵ ± ۱/۱۳^{b}	۱۳/۴۷ ± ۱/۱۲^{a}	۱۵/۴۸ ± ۱/۲۳^{a}	۱۵/۱۰ ± ۱/۱۴^{a}
نرخ رشد ویژه (درصد)	۲/۰۰ ± ۰/۰۸^{b}	۳/۱۳ ± ۰/۱۱^{a}	۳/۲۲ ± ۰/۱۲^{a}	۳/۲۶ ± ۰/۱۱^{a}
شاخص وضعیت	۱/۰۰ ± ۰/۱۰^{b}	۱/۲۵ ± ۰/۱۱^{ab}	۱/۲۷ ± ۰/۲۲^{ab}	۱/۴۱ ± ۰/۱۸^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۲۱ ± ۰/۱۱^{a}	۱/۱۷ ± ۰/۱۵^{a}	۱/۱۹ ± ۰/۱۷^{a}	۱/۱۴ ± ۰/۱۲^{a}
بازماندگی (درصد)	۹۵/۰۰ ± ۵/۰۰^{a}	۹۳/۱۰ ± ۴/۱۲^{a}	۹۵/۱۰ ± ۵/۲۰^{a}	۹۵/۱۰ ± ۳/۳۳^{a}

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ($P<0/05$).

جدول ۲: پارامترهای خونی بچه‌ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های حاوی غلظت‌های مختلف سیتریک اسید (میانگین ± انحراف معیار)

شاخص‌های هماتولوژی خون	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲ (۱ گرم سیتریک اسید)	تیمار ۳ (۲ گرم سیتریک اسید)	تیمار ۴ (۳ گرم سیتریک اسید)
گلبول‌های سفید (10^{4} سلول در میلی‌لیتر)	۳/۹۵ ± ۰/۲۱^{a}	۴/۱۳ ± ۰/۱۱^{a}	۴/۲۰ ± ۰/۲۱^{a}	۴/۱۶ ± ۰/۱۸^{a}
گلبول‌های قرمز (10^{6} سلول در میلی‌لیتر)	۱/۳۶ ± ۰/۰۴^{b}	۱/۵۲ ± ۰/۰۵^{ab}	۱/۵۵ ± ۰/۰۷^{ab}	۱/۶۰ ± ۰/۰۴^{a}
هموگلوبین (گرم بر لیتر)	۴/۳۱ ± ۰/۱۹^{b}	۵/۶۸ ± ۰/۲۷^{ab}	۵/۳۴ ± ۰/۲۳^{ab}	۶/۰۳ ± ۰/۱۸^{a}
هماتوکریت (درصد)	۳۲/۷۶ ± ۱/۳۱^{b}	۳۷/۲۱ ± ۲/۲۲^{ab}	۴۱/۶۰ ± ۱/۱۷^{a}	۳۸/۲۰ ± ۲/۴۰^{ab}
حجم متوسط گلبول قرمز (فمتولیتر)	۲۲۸/۱۲ ± ۱۷/۱۵^{a}	۲۴۷/۲۳ ± ۱۱/۴۷^{a}	۲۴۶/۲۱ ± ۲۰/۳۰^{a}	۲۳۸/۳۱ ± ۲۱/۱۰^{a}
متوسط وزن هموگلوبین در یک گلبول قرمز (پیکوگرم)	۳۱/۵۲ ± ۳/۴۴	۳۷/۳۶ ± ۴/۳۱	۳۴/۷۰ ± ۵/۲۱	۳۷/۶۲ ± ۴/۶۸
غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (گرم بر دسی لیتر)	۱/۳۴ ± ۰/۱۷	۱/۵۲ ± ۰/۱۳	۱/۲۸ ± ۰/۲۰	۱/۶۰ ± ۰/۲۱

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد ($P<0/05$).

بحث

اسیدهای آلی با حفظ pH مناسب دستگاه گوارش سبب بهبود اثر آنزیم‌ها بر مواد غذایی و جذب مواد غذایی بیش‌تر در حیوانات پرورشی می‌شود که نتیجه آن کاهش مواد غذایی جذب نشده برای رشد باکتری‌ها است (۷). در بسیاری از مزارع پرورشی شرایط محیطی نامطلوب نظیر تغییرات در pH، پایین بودن اکسیژن محلول، افت کیفیت آب جهت پرورش و یا مشکلات مدیریتی شامل تغذیه ناکافی، تغذیه بیش از حد و تراکم خارج از استاندارد، استرس‌هایی را برای ماهیان پرورشی ایجاد نموده که سبب کاهش در رشد و تضعیف سیستم ایمنی شده و آن‌ها را در برابر انواع بیماری‌ها مستعد می‌سازد (۱۸).

در بین افزودنی‌ها، اسیدهای آلی یا مکمل‌های اسیدهای آلی به‌عنوان جایگزین مناسبی معرفی شده‌اند. مطالعات انجام شده در گونه‌های آبزیان مناطق گرمسیر و سردسیر نشان می‌دهد که مجموعه متنوع اسیدهای آلی، نمک ها یا ترکیبات آن‌ها نقش موثری در بهبود رشد و مقاومت در برابر بیماری در آبزیان دارند (۷). افزودن ۳ گرم در کیلوگرم سیتریک اسید به جیره غذایی ماهی تیلاپیا باعث بهبود رشد و بهتر شدن راندمان غذایی گردید (۱۹) که با نتایج به‌دست آمده در تحقیق اخیر هم‌خوانی داشت. Soleymani Iraei و همکاران، اثرات سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد مکمل اسیدهای آلی شامل اسید فرمیک، اسیدسیتریک، اسیدمالیک، اسیدلاکتیک و اسیدتارتاریک را بر رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بررسی کردند،

گزارش کردند که شاخص‌های رشد در تیمارهای تغذیه شده با اسیدهای آلی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشتند که با نتایج به‌دست آمده در آزمایش اخیر هم‌خوانی دارد. برخلاف نتایج به‌دست آمده در این آزمایش، Ringo و Strom، بیان نمودند شاخص‌های رشد، در بین تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی اسیدهای آلی در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (۲۱). Sudagar و همکاران، گزارش کردند که افزودن اسید سیتریک به‌میزان ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در کیلوگرم در جیره فیل‌ماهی (*Huso huso*) باعث افزایش وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت گردیده است که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی داشت (۲۲). Khajepour و Hosseini، با جایگزینی نسبت‌های مختلف کنجاله سویا غنی شده با سطوح ۰ و ۳۰ گرم در کیلوگرم اسید سیتریک با پودر ماهی در جیره غذایی فیل‌ماهی (*Huso huso*) به‌مدت ۸ هفته اظهار نمودند که وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در تیمارهای حاوی اسید سیتریک به‌طور معنی‌داری بهبود یافته است (۲۳) که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی داشت. بهبود شاخص‌های رشد می‌تواند ناشی از بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی و هم‌چنین تغییر فلور میکروبی روده (کاهش بار میکروبی مضر و افزایش باکتری‌های مفید) به‌واسطه اسیدی شدن باشد. هم‌چنین انرژی حاصل از اسیدهای آلی مورد مصرف سلول‌های اپیتلیال روده قرار می‌گیرد و در نتیجه افزایش رشد سلول‌های انتروسیت و افزایش جذب غذا را به‌دنبال خواهد داشت (۹). تغییرات شاخص‌های خونی در ماهیان وابسته به شرایط محیط پرورش می‌باشد. بیماری، نوع تغذیه، مکمل‌های غذایی، آلودگی، استرس و سایر موارد می‌تواند در تغییر شاخص‌های خونی موثر باشند. نتایج آزمایش نشان داد ماهیان تغذیه شده با تیمارهای حاوی سیتریک اسید افزایشی را در میزان هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز نسبت به گروه شاهد نشان دادند. بهبود شاخص‌های خونی در ماهیان تغذیه شده با تیمارهای حاوی سیتریک اسید به‌خوبی نشان‌دهنده بهبود کیفیت ایمنی ماهیان می‌باشد، زیرا افزایش ایمونوگلوبولین‌ها ناشی از افزایش تعداد و فعالیت سلول‌های دفاعی در بافت‌های ایمنی ماهی است که مقاومت در برابر شرایط استرس‌زا به‌ویژه عفونت‌های میکروبی را افزایش می‌دهد (۲۴). نتایج پژوهش توسط Omosowone و همکاران، نشان داد که مقدار ۵ گرم در کیلوگرم اسیدفرمیک سبب بهبود فاکتور خونی گربه‌ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) می‌شود (۲۵) که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. علت افزایش هماتوکریت می‌تواند ناشی از کاهش حجم پلاسما، تورم گلبول‌های قرمز و آزاد شدن بیش‌تر گلبول‌های قرمز خون از بافت‌های خون‌ساز باشد. در مطابقت با تحقیق حاضر، Soleymani Iraei و همکاران، تایید کردند که سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد مکمل اسیدهای الی تعداد گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*O. mykiss*) را افزایش داده‌اند (۲۰). در کل، نتایج این مطالعه نشان داد افزودن سیتریک اسید به جیره غذایی بچه‌ماهی قرمز سبب بهبود پارامترهای رشد و شاخص‌های خونی می‌گردد. از طرفی، بهترین عملکرد شاخص‌های اندازه‌گیری شده در ماهیان تغذیه شده با ۲ گرم اسید سیتریک در هر کیلوگرم غذا مشاهده شد.

منابع

1. **Castillo, S., Rosales, M., Pohlenz, C. and Gatlin, D., 2014.** Effects of organic acids on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile red drum Sciaenops ocellatus. Aquaculture. 433 p.
2. **NRC. 2011.** Nutrient requiements of fish and shrimp. National Academies Press, Washington, D.C. 376 p.
3. **Abu Elala, N. and Ragaa, N., 2015.** Eubiotic effect of a dietary acidifier (*potassium diformate*) on the health status of cultured *Oreochromis niloticus*. Journal of Advanced Research. 6: 621-629.
4. **Ahmad, I., 2006.** Effect of probiotics on broilers performance. International Journal of Poultry Science. 5: 593-597.
5. **Eidelsburger, U., 1998.** Feeding short-chain organic acide to pigs. In: In Recent Advances in Animal Nutrition, Garnsworthy, P.C. and Wiseman, J., Nottingham University Press, Nottingham, UK. 93-106.
6. **Huyghebaert, G., Ducatelle, R. and Immerseel, F., 2011.** An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. Veterinary Journal. 187: 182-188.
7. **Lurkstadt, C., 2008.** Acidifiers in Animal Nutrition. Nottingham University Press. 119 p.
8. **Wing-Keong, N. and Chik-Boon, K., 2016.** The utilization and mode of action of organic acids in the feeds of cultured aquatic animals Reviews in Aquaculture. 1-27.
9. **Jafarnodeh, A., Tukmechi, A., Hajimoradlo, A. and Noori, F., 2020.** Study of synergistic Effects of potassium- sorbate and Lactobacillus casei on the activity of digestive enzymes, intestinal Histomorphology and resistance against pathogenic bacteria (*Yersinia ruckeri*) in rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Applied Ichthyological Research. 8(2): 51-59. (In Persian)
10. **Hadidi, S. and Taati, R., 2016.** Effect of different levels of dietary Biotronic™ as acidifier supplement on feed efficiency and some hematological and immune parameters of tiger Oscar (*Astronotus ocellatus*). Iranian Veterinary Journal. 12(3): 32-41. (In Persian)
11. **Morken, T., Barrow, F. and Overland, M., 2011.** Sodium diformate and extrusion temperature affect nutrient digestibility and physical quality of diets with fish meal and barley protein concentrate for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 317: 138-145.

12. **Pandey, A. and Satoh, S., 2008.** Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fisheries Science. 74: 867-874.

13. **Mohammadi, M.J., Rajabzadeh Ghatrami, E., Soltani, M., Ghaedi, A. and Alishahi, M., 2020.** Effects of sodium diformate and citric acide on growth performance, immune and hematological parameters of the juvenile *Oncorhynchus mykiss*. Iranian Scientific Fisheries Journal. 29 (1) :117-129. (In Persian)

14. **Pourmozaffar, S., Hajimoradloo, A.M. and Kolangi Miandare, H., 2017.** Dietary effect of apple cider vinegar and propionic acid on immune related transcriptional responses and growth performance in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish & Shellfish Immunology. 60: 65-71.

15. **Yang, S.D., Lin, T.S., Liu, F. and Liou, H., 2007.** Influence of dietary phosphorus levels on growth, metabolic response and body composition of juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). Aquaculture. 230: 405-413.

16. **Akbary, P. and Jahanbakhshi, A. 2019.** Nano and macro iron oxide (Fe_2O_3) as feed additives: Effects on growth, biochemical, activity of hepatic enzymes, liver histopathology and appetite-related gene transcript in goldfish (*Carassius auratus*). Aquaculture. 510: 191-197.

17. **Feldman, B.F., Zinkl, J. and Jian, N. 2000.** Schalms veterinary hematology, Lippincott Williams and Wilkins publication, Philadelphia, USA. 1750 p.

18. **Winton, J.R., 2001.** Fish health management. In: Wedemeyer, G. 2001. Fish hatchery management. 2 editions. Bethesda, M.D., American Fisheries Society. 559-639.

19. **Liebert, F., Mohamed, K. and Luckstadt, C., 2010.** Effects of diformates on growth and feed utilization of all male Nile Tilapia fingerlings (*Oreochromis niloticus*) reared in tank culture. XIV International symposium on fish Nutrition and feeding, Qingdao, China, Book of Abstracts. 190 p.

20. **Soleymani Iraei, M., Sajjadi, M.M., Keramat Amirkolaei, A., Farahi, A. and Karimzade, S., 2012.** Effects of different levels of organic acids on growth performance, body composition and hematological parameters of rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics. 1(3): 1-14. (In Persian)

21. **Ringo, E. and Strom, E., 1994.** Microflora of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*): Gastrointestinal microflora of free-living fish and effect of diet and salinity on intestinal microflora. Aquaculture Research. 25: 623-629.

22. **Sudagar, M., Hosseinpoor, Z. and Hoseini, 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. AACL Bioflux. 3: 311-316.

23. **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. 171: 68-73.

24. **Lucdttak, C., Liou, Z. and Strom, A., 2014.** The use of acidifiers in fish nutrition. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutition and Natural Resources. 3: 1-8.

25. **Omosowone, O., Adekunle, A. and Eunice, A. 2014.** Effect of dietary supplementation of fumaric acid on growth performance of African catfish *clarias gariepinus* and *aeromonas sobria* challenge. Croatian Journal of Fisheries, 20: 85-94.