بررسی تأثیر سطوح مختلف نمک پروپیونات سدیم جیره غذایی بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

- **رقیه صفری***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ٤٨٧-٤٩١٧٥
- **شبنم نژادمقدم**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ٤٨٧-٤٩١٧٥
- **سیدحسین حسینی‌فر**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ٤٨٧-٤٩١٧٥
- **علی جافرنوده**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ٤٨٧-٤٩١٧٥

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: مهر ۱۳۹۵

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر سطوح مختلف نمک پروپیونات سدیم در جیره غذایی بر شاخص‌های خون‌شناسی (تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، اندیس‌های خونی (MCH، MCV و MCHC) و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم (گلوکز، کلسترول، آلبومین و پروتئین کل) در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌باشد. ماهیان در محدوده وزنی ٤/٤٣±٢٥/٩٩ به ٤ گروه آزمایشی، یک گروه شاهد با جیره غذایی پایه، ۳ گروه تیمار آزمایشی با جیره حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ درصد نمک پروپیونات سدیم (با ۳ تکرار) تقسیم شدند. نتایج نشان داد که استفاده از نمک پروپیونات سدیم در جیره غذایی در میزان هموگلوبین، هماتوکریت و اندیس‌های خونی (MCV و MCHC) در برخی تیمارهای آزمایش روند افزایشی داشته است اما این اختلاف معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). در حالی‌که میزان MCH در تیمار ۱٪، گلبول قرمز در تیمار ۲٪ و تعداد گلبول سفید در تیمار ۰/۵ و ۱٪ پروپیونات سدیم افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شاهد نشان داد(P<۰/۰۵). در بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهیان نتایج کاهش کلسترول خون را نشان داد اما این اختلاف معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری در میزان گلوکز بین تیمارها مشاهده شد (P<۰/۰۵). به‌طوری‌که کم‌ترین مقدار گلوکز مربوط به تیمار ۲٪ پروپیونات سدیم بود که با گروه شاهد از نظر آماری اختلاف نداشت (P>۰/۰۵). در گروه‌های دریافت‌کننده نمک میزان آلبومین و پروتئین کل تغییرات معنی‌داری نداشت (P>۰/۰۵). در مجموع به‌نظر می‌رسد افزودن نمک پروپیونات سدیم به جیره غذایی می‌تواند سبب تقویت برخی فاکتورهای دخیل در سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی کپور معمولی شود.

کلمات کلیدی: نمک پروپیونات سدیم، ماهی کپور، شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: fisheriessafari@yahoo.com

مقدمه

گسترش آبزی‌پروری در طی ۱۰ سال گذشته آبزیان را به‌عنوان یک منبع پروتئینی حیوانی مهم در سراسر جهان تبدیل کرده است (Martínez و همکاران، ۲۰۱۶). در این راستا افزایش تراکم و به‌دنبال آن کاهش کیفیت آب، خطر ابتلا به بیماری‌ها امری بدیهی است. یکی از روش‌های جلوگیری از ضررهای حاصل از بیماری، پیشگیری و کنترل آن می‌باشد. استفاده از آنتی بیوتیک‌ها و پیشگیری‌کننده‌های شیمیایی مشکلات عمده‌ای مانند مقاوم شدن عامل بیماری نسبت به دارو، تجمع زیستی درگوشت آبزیان، افزایش هزینه‌های جاری تولید ماهی و آلودگی محیط‌زیست را به‌همراه دارد(Tangestani و همکاران، ۲۰۱۱). بنابراین بسیاری از کشورها استفاده از برخی آنتی‌بیوتیک‌ها و پیشگیری‌کننده‌های شیمیایی را منع و پرورش دهندگان را به سمت استفاده از محرک‌های ایمنی و مواد طبیعی سوق داده‌اند (Safari و همکاران، ۲۰۱۶).

اسیدهای آلی یکی از انواع محرک‌های طبیعی می‌باشند که در ساختارشان دارای یک یا بیش از چند گروه کربوکسیل است (Wing-Keong و همکاران، ۲۰۰۹). از بین این ترکیبات، آن‌هایی که بین ۱ تا ۷ کربن دارند، دارای اثرات ضد میکروبی هستند (Eidelsburger، ۱۹۹۸). اسیدهای آلی ازطریق فرایند انتشار،جذب سلول‌های اپیتلیوم روده می‌شوند و انرژی این سلول‌ها را تأمین می‌کنند که درپی آن سلامت روده را به‌دنبال خواهد داشت (partanen و Morz، ۱۹۹۹). هم‌چنین این اسیدها با نفوذ به دیواره سلولی باکتری باعث افزایش نفوذ پروتون به داخل سلول می‌شوند، بنابراین باکتری برای خروج پروتون‌ها با مصرف زیاد انرژی (ATP) جهت حفظ pH درون سلولی خود تلاش می‌کند، در نتیجه به‌دنبال کاهش انرژی سلولی باعث مرگ تدریجی باکتری می‌شود (da Silva و همکاران، ۲۰۱۳).

مطالعات نشان می‌دهدکه اسیدهای‌آلی به‌عنوان‌ترکیبات مقرون به‌صرفه و باخاصیت بهبودعملکرد بدن و خواص ضدمیکروبی،گزینه‌ای مطمئن در صنعت خوراک آبزیان می‌باشد(Hayek و همکاران، ۲۰۱۳؛ Raftari، ۲۰۰۹؛ Skrivanova و همکاران، ۲۰۰۶).اثرات‌مثبت استفاده از اسیدهای‌آلی در جیره آبزیان به جهت کنترل بیماری و بهبود عملکرد رشد در گربه‌ماهی (*Clarias gariepinus*)(Owen و همکاران، ۲۰۰۶)، هیبرید تیلاپیا (*Oreochromis* sp.) (Ng و همکاران، ۲۰۰۹؛ Zhou و همکاران، ۲۰۰۹)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Pandey و Satoh، ۲۰۰۸)، سیم دریایی (*Pagrus major*) (Hossain و همکاران، ۲۰۰۷) و کپور روهو (*Labeo rohita*) (Baruah و همکاران، ۲۰۰۷a,b) گزارش شده است. به‌نظر می‌رسد این ترکیبات با تحریک ترشح آنزیم معده، قابلیت هضم و جذب مواد غذایی و خواص ضدمیکروبی سبب بهبود نرخ تبدیل غذا، افزایش وزن و سلامتی آبزی می‌شود که موجب عرضه محصول در زمان کوتاه‌تر به بازار شده و در نهایت کاهش هزینه‌ها (به‌ویژه در بخش هزینه غذا) را به‌دنبال خواهدداشت. با این‌وجودهنوز اثرات اسیدهای‌آلی و نمک‌های آن بر بسیاری از جنبه‌های فیزیولوژیکی و شاخص‌های خونی مشخص نشده است.

پایش منظم خون آبزیان ابزار مفید و مناسبی برای پایه‌گذاری وضعیت سلامت گله‌های ماهی مزارع می‌باشد (کاظمی و همکاران، ۱۳۸۹). شاخص‌های خونی باتوجه به اندازه، سن، وضعیت سلامتی، عوامل‌محیطی‌و نیز در مراحل مختلف‌رسیدگی‌جنسی‌متغیر می‌باشند. ترکیب خون در پاسخ به شرایط اکولوژیکی، فیزیولوژیکی و استرس دچار تغییرات عمده‌ای می‌شود. به‌طورکلی گلبول قرمز، (MCH)،[1] (MCV)،[2] (MCHC)،[3] گلبول‌های سفید، هموگلوبین، هماتوکریت، گلوکز و پروتئین‌کل به‌عنوان شاخص‌استرس درمطالعات خون‌شناسی مطرح می‌باشند و از مهم‌ترین مؤلفه‌های دخیل در سیستم ایمنی غیراختصاصی می‌باشند (فرزانفر، ۱۳۸۴).

ماهی کپور معمولی[4] با نام علمی (*Cyprinus carpio*) از خانواده *Cyprinidae*، به‌علت صرفه اقتصادی و خوش‌طعم بودن گوشت آن یکی از مهم‌ترین ماهیان پرورشی به‌شمار می‌رود (وثوقی و مستجیر، ۱۳۸۳؛ ستاری و همکاران، ۱۳۸۲). در حال حاضر مطالعات اندکی د رابطه با خواص تغذیه‌ای اسیدهای‌آلی و نمک‌های‌آن‌ها بر شاخص‌های ایمنی خون در آبزیان وجود دارد، درحالی‌که در حیوانات خشکزی این خواص کاملاً شناخته شده است. به‌عنوان مثال استفاده از مکمل نمک بوتیرات سدیم در رژیم غذایی جوجه‌های گوشتی باعث افزایش پاسخ ایمنی و کاهش صدمه به بافت شد (Zhang و همکاران، ۲۰۱۱). از آن‌جاکه تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثر نمک پروپیونیات سدیم[5] بر شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی مرتبط با ایمنی ماهی کپور معمولی صورت نگرفته است، لذا در این بررسی اثر مکمل غذایی نمک پروپیونات سدیم بر برخی فاکتورهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی خون که از مؤلفه‌های دخیل در سیستم ایمنی غیراختصاصی بدن می‌باشند در جهت بهبود عملکرد سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی کپور معمولی مورد مطالعه قرار گرفت.

[1] Mean Corpuscular Hemoglobin
[2] Mean Corpuscular Volume
[3] Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
[4] Common carp
[5] Sodium propionate

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در آزمایشگاه آبزی‌پروری شهیدفضلی‌برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. در این بررسی کپور ماهیان از کارگاه تکثیر و پرورش سیجوال در استان گلستان تهیه و به‌مدت دو هفته جهت سازگاری در شرایط آزمایشگاه نگه‌داری شدند. در این تحقیق نمک پروپیونات سدیم از شرکت سیگما[1] (آلمان) خریداری شد. ۴۸ قطعه ماهی کپور با میانگین وزنی ۴/۴۳±۲۵/۹۹ تحت جیره غذایی حاوی ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد پروپیونات سدیم (Safari و همکاران، ۲۰۱۶) به‌مدت ۸ هفته تغذیه (روزانه به‌میزان ۳ ٪ وزن بدن) شدند. در پایان دوره به جهت سنجش شاخص‌های خونی (CBC) و بیوشیمیایی خون، خونگیری به‌عمل آمد. بدین منظور ابتدا ماهیان توسط پودر گل میخک (۱ گرم در لیتر) بی‌هوش شدند و خون‌گیری از انتهای ساقه دمی توسط سرنگ ۲/۵ سی‌سی صورت گرفت. یک بخش از نمونه‌های خون جهت سنجش فاکتورهای خون‌شناسی (گلبول قرمز، گلبول سفید، هماتوکریت و هموگلوبین) در ویال‌های حاوی ماده ضدانعقاد خون (هپارین) قرار داده شدند. بخش دیگر خون به ویال‌های فاقد هپارین برای جداسازی سرم جهت سنجش میزان گلوکز، کلسترول، آلبومین و پروتئین کل انتقال یافت. برای جداسازی سرم از سلول‌های خونی، نمونه‌های خون به‌مدت ۷ دقیقه با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم جداشده به ویال‌ها ریخته شده و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

جهت تعیین شاخص‌های خونی از روش‌های توصیف شده توسط Houston (۱۹۹۰) (برای خون شناسی ماهیان) استفاده شد. تعداد گلبول‌های قرمز و سفید پس از رقیق‌سازی با محلول دیس (با رقت ۵۰:۱) با استفاده از لام نئوبار مورد سنجش قرار گرفت (Rawling و همکاران، ۲۰۰۹).

سنجش مقدار هموگلوبین خون با استفاده از روش استاندارد سیانومت هموگلوبین توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر و کیت تشخیصی شرکت پارس آزمون در طول موج ۵۴۰ نانومتر انجام گرفت. بدین منظور ابتدا در هر لوله آزمایش ۵ میلی‌لیتر محلول درابکین ریخته و سپس ۲۰ میکرولیتر نمونه خون به آن اضافه شد. جهت همگن شدن محلول لوله‌های آزمایش به‌مدت ۱ دقیقه بر روی دستگاه شیکر قرار گرفتند و سپس با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر عدد جذب خوانش شد (Blaxhall و Daisley، ۱۹۷۳). درصد هماتوکریت (HCT) با روش میکروهماتوکریت با استفاده از دستگاه میکروسانتریفیوژ و خط‌کش مخصوص سنجیده شد (Danilova، ۲۰۰۶). شاخص‌های گلبولی از جمله میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین در گلبول قرمز (MCH)، میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول قرمز (MCHC) براساس فرمول زیر محاسبه شد (Shalaby و همکاران، ۲۰۰۶):

MCV= هماتوکریت/ (برحسب میلیون بر متر مکعب) تعداد یاخته‌های قرمز × ۱۰

MCH=(گرم در دسی‌لیتر)/هموگلوبین (برمترمکعب) تعداد یاخته‌های قرمز (برحسب میلیون) ×۱۰

MCHC= هموگلوبین (برحسب گرم در دسی‌لیتر)/ هماتوکریت × ۱۰۰

میزان گلوکز، کلسترول، پروتئین کل و آلبومین در طول موج ۵۴۶نانومتر به‌روش فوتومتریک و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Model WPA-S2000-UV/VIS, Cambridge-UK) و کیت‌های تجاری (پارس آزمون، ایران) اندازه‌گیری شد (Shahsavani و همکاران، ۲۰۱۰).

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS۲۲ انجام گرفت. پس از مشخص شدن توزیع نرمال داده‌ها (با استفاده از آزمون شیپیرو ویلک) جهت مقایسه میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ($P<0/05$) استفاده گردید. کلیه داده‌ها به‌صورت میانگین± انحراف معیار (SD) بیان شده‌اند.

نتایج

نتایج حاصل از تجویز خوراکی سطوح مختلف نمک پروپیونات سدیم و تأثیر بر روی شاخص‌های خون‌شناسی در ماهی کپور معمولی در جدول ۱ آمده است. براساس نتایج به‌دست آمده ماهیانی که از جیره غذایی حاوی نمک پروپیونات سدیم تغذیه کردند (تیمار ۰/۵ و ۱ درصد) میزان هموگلوبین در مقایسه با گروه شاهد روند افزایشی داشت هرچند تفاوت محاسبه شده از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P>0/05$). در بررسی انجام شده سنجش میزان هماتوکریت تفاوت معنی‌داری را بین سطوح مختلف نمک پروپیونات سدیم نشان نداد ($P>0/05$). هرچند مقادیر آن‌ها در هر ۳ تیمار آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد یک روند افزایشی را نشان داد. هم‌چنین MCHC و MCV تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای آزمایشی نشان نداند ($P>0/05$). هرچند که در میزان MCV یک روند افزایشی بین تیمارهای ۱٪ و ۲٪ نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. نتایج نشان می‌دهد که نمک پروپیونات سدیم بر روی مقدار هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) تأثیر دارد ($P<0/05$). به‌طوری که بالاترین میزان مربوط به تیمار ۱٪ بود. بررسی تغییر در تعداد گلبول‌های قرمز خون بین تیمارهای مختلف آزمایش نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مختلف است ($P<0/05$). به‌طوری که تیمار ۲٪ بالاترین میزان گلبول قرمز را در بین تیمارهای آزمایشی نشان می‌دهد ($P<0/05$). هم‌چنین از نظر تعداد گلبول‌های سفید در

[1] Sigma

بین تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که بیش‌ترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای ۰/۵ و ۲ درصد مشاهده گردید که این اختلاف بین تیمار ۰/۵ و ۲ ٪ معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵)، به‌طوری‌که کم‌ترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد.

جدول ۱ : مقایسه میانگین شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با نمک پروپیونات سدیم (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد)

شاخص‌های خونی	شاهد	پروپیونات سدیم ۰/۵ درصد	پروپیونات سدیم۱ درصد	پروپیونات سدیم۲ درصد
گلبول قرمز (×۱۰^{۶})	۱/۲۰±۰/۵^{ab}	۱/۴۰±۰/۱۸^{a}	۱/۰۷±۰/۱۲^{b}	۱/۱۶±۰/۱۵^{ab}
هموگلوبین (گرم بر دسی‌لیتر)	۴/۴۰±۰/۰۲	۴/۶۰±۰/۰۱	۴/۴۷۰±۰/۰۲	۴/۶۰±۰/۰۰
هماتوکریت (درصد)	۲۴/۵۸±۴/۵۰	۲۷/۰۰±۲/۶۴	۲۵/۶۶±۱/۱۵	۲۸/۷۵±۱/۲۵
MCV (فمتولیتر)	۲۰۴±۳۳/۰۰^{a}	۱۹۶±۴۲/۰۸^{a}	۲۴۰±۲۰/۰۰^{a}	۲۵۰±۴۳/۰۰^{a}
MCH (پیکوگرم)	۳۸۳/۰۰±۱۴/۰۰^{ab}	۳۳۶/۰۰±۳۵/۰۰^{b}	۴۲۹±۴۵/۰۰^{a}	۳۹۹/۰۰±۴۸/۰۰^{ab}
MCHC (درصد)	۱۹۱/±۳۶/۰۰^{a}	۱۷۴/۱۰±۲۱/۰۰^{a}	۱۷۸/۰۰±۷/۰۰^{a}	۱۶۰/۵۰±۱۰/۰۰^{a}
گلبول سفید ×۱۰^{۳}	۵/۰±۴/۶^{b}	۶/۷±۰/۱^{a}	۵/۷±۰/۱^{b}	۷/۰±۳/۳^{a}

حروف غیرمشابه به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

نتایج حاصل از تجویز خوراکی سطوح مختلف نمک پروپیونات سدیم و تأثیر بر روی شاخص‌های بیوشیمیایی خون در ماهی کپور معمولی: طبق نتایج به‌دست آمده میزان کلسترول سرم خون در تیمارهای آزمایشی کاهش یافت، البته این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). از لحاظ میزان گلوکز تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (P<۰/۰۵). همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود در تیمارهای آزمایشی یک روند نامنظمی مشاهده می‌شود و تیمار ۲٪ کم‌ترین مقدار را نشان داد اما از نظر آماری با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵). درحالی‌که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). نتایج حاصل شده از مقایسه میانگین داده‌های مربوط به سایر فاکتورهای بیوشیمیایی خون (آلبومین و توتال پروتئین) نیز اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مورد مطالعه وجود نداشت (P>۰/۰۵).

جدول ۲: مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با نمک پروپیونات سدیم (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد)

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم	شاهد	پروپیونات سدیم ۰/۵درصد	پروپیونات سدیم ۱ درصد	پروپیونات سدیم۲ درصد
گلوکز	۸۲/۳۸±۰/۴۸^{c}	۸۷/۴۹±۰/۰۰^{a}	۸۵/۸۷±۰/۱۴^{b}	۸۲/۱۱±۰/۵۱^{c}
پروتئین کل	۵/۵۶±۰/۲۵	۵/۷۵±۰/۲۰	۵/۴۹±۰/۱۵	۵/۵۲±۰/۱۱
آلبومین	۳/۲۵±۰/۰۲	۳/۲۶۰±۰/۰۰	۳/۲۷±۰/۰۷	۳/۲۶±۰/۰۲
کلسترول	۱۹۱/۴۸±۴/۱۸	۱۸۹/۷۹±۳/۳۹	۱۸۷/۸۲±۶/۹۲	۱۸۳/۹۲±۴/۲۸

حروف غیرمشابه به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است

بحث

نگرانی به جهت مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری موجب شده است تا مطالعاتی در خصوص روش‌های جایگزین کنترل بیماری آغاز شود. درحال حاضر محققین تمایل بسیاری به جهت استفاده تجاری از محرک‌های ایمنی طبیعی نظیر پروبیوتیک‌ها، پربیوتیک‌ها و اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها در خوراک آبزیان دارند که تمامی این ترکیبات باعث بهبود عملکرد رشد و ایمنی می‌شوند (Dasilva و همکاران، ۲۰۱۵؛ Perez-Sanchez و همکاران، ۲۰۱۱؛ Luckstadt، ۲۰۰۸). بیش‌تر اسیدهای‌آلی به‌دلیل ساختار ساده و اندازه کوچک می‌توانند عملکرد مفیدی داشته باشند و به‌راحتی به درون سلول نفوذ کنند (Nakai و Siebert، ۲۰۰۳). اسیدهای آلی با کاهش pH غذا از رشد فلور میکروبی در غذا جلوگیری کرده و موجب کاهش جذب ارگانیسم‌های پاتوژن احتمالی و متابولیت‌های سمی آن‌ها از طریق غذا در جانوران پرورشی می‌شوند (Freitag، ۲۰۰۷).

گزارشات متعددی مبنی بر اثرات چندین اسیدآلی و نمک‌های آن‌ها بر روی مصرف غذا، افزایش رشد و ایمنی ماهی وجود دارد (Luckstadt، ۲۰۰۸؛ Baruah و همکاران، ۲۰۰۷؛ Sarker و همکاران، ۲۰۰۷). به‌عنوان مثال تغذیه ماهی تیلاپیای نیل با جیره حاوی اسید آلی دی‌فرمات پتاسیم سبب تقویت سیستم ایمنی ذاتی این گونه شد و پس از مواجهه با باکتری *Vibrio anguillarum*، درصد بقای ماهیان

تغذیه شده با مکمل غذایی مذکور به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود (Ramli و همکاران، ۲۰۰۵). هم‌چنین در مطالعه‌ای استفاده از ۶ نوع نمک سدیم در تغذیه میگوی وانامی *Penaeus monodon* نمک پروپیونات و بوتیرات از طریق مهار عوامل بیماری‌زا و افزایش راندمان تغذیه باعث بهبود عملکرد بدن میگوی‌وانامی‌شدند(Da Silva و همکاران، ۲۰۱۳). اما مطالعات جامعی در خصوص اثر اسیدهای آلی و نمک‌های آن بر روی فاکتورهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی مرتبط با ایمنی خون ماهی کپورمعمولی وجود ندارد. تنها تعداد محدودی از مطالعات در خصوص بهبود عملکرد ایمنی هومورال در میگو انجام شده است. به‌عنوان مثال استفاده از نمک پروپیونات و بوتیرات سدیم در میگوی وانامی *Penaeus monodon* در غلظت‌های مختلف باعث تغییر فلور باکتریایی روده، بهبود تیتر آگلوتیناسیون سرم و ارتقای عملکرد رشد در تیمارهای آزمایشی حاوی نمک شد (Da Silva و همکاران، ۲۰۱۴).

میزان هموگلوبین وهماتوکریت تابعی از تغییرات گلبول قرمز می‌باشد و رابطه مستقیم با آن دارد (گازرانی‌فراهانی، ۱۳۸۱). تعداد هموگلوبین و درصدهماتوکریت در تیمارهای آزمایش یک روند افزایشی را نشان داند هرچند که این تفاوت معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). گلبول قرمز در تیمار ۲٪ پروپیونات سدیم دارای افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شاهدشده است(P<۰/۰۵). این افزایش می‌تواند ناشی از اثر نمک پروپیونات بر محیط روده‌ای باشد. چرا که اسیدهای آلی و نمک‌های آن اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه(C1-C7) می‌باشند (Wing-Keong و همکاران، ۲۰۰۹) و تحقیقات انجام شده مشخص کرده است که ورود اسیدهای چرب کوتاه زنجیره به روده سبب افزایش جریان خون می‌شود (Cherbut و همکاران، ۱۹۹۷).

هم‌چنین شاخص MCV با وجود عدم تفاوت معنی‌دار یک روند افزایشی در بین تیمارهای ۳ و ۴ نسبت به گروه شاهد را نشان دادند (P>۰/۰۵). افزایش حجم گلبول قرمز نشان‌دهنده عدم وجود استرس سبب تسهیل حرکت و تعلیق گلبول‌های قرمز شده و سرعت رسوب ولختگی‌آن‌ها درون رگ را کاهش می‌دهد که این موضوع نتیجه مثبت در روند فیزیولوژی دستگاه گردش خون را به‌همراه دارد (Tangestani و همکاران، ۲۰۱۱). MCH روند افزایشی در بین تیمارهای آزمایشی را نشان داد (P<۰/۰۵).

تعداد گلبول‌های سفید خون در تیمارهای ۰/۵ و ۲٪ نمک پروپیونات سدیم افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت (P<۰/۰۵). از آن جاکه گلبول‌های سفید خونی نقش عمده‌ای در سیستم دفاعی بدن ماهی دارند بنابراین افزایش تعداد آن‌ها تحت تأثیر محرک‌های ایمنی منطقی به‌نظر می‌رسد. از طرفی بسیاری از ترکیبات هومورال غیراختصاصی سیستم ایمنی ماهی توسط گلبول‌های سفید ترشح می‌شوند. گزارشات متعددی در رابطه با افزایش تعداد گلبول‌های سفید خونی در زمان مواجهه ماهی با عفونت‌ها و در مواقع استفاده از واکسن‌ها و محرک‌های ایمنی وجود دارد (Darias و همکاران، ۲۰۱۱؛ Marian، ۲۰۰۴؛ Thrall، ۲۰۰۴؛ Kajita و همکاران، ۱۹۹۰). احتمالاً افزایش تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند نشانه اثرات مثبت نمک پروپیونات سدیم به‌عنوان محرک دستگاه ایمنی باشد. در مطالعه‌ای که توسط جافرنوده (۱۳۹۵) در بررسی اثر توأم برخی اسیدهای‌آلی با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس‌کازئی (*Lactobacillus casei*) در پرورش بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*mykiss Oncorhynchus*) صورت گرفته است، نتایج به‌دست‌آمده حاکی‌ازعدم‌تأثیرمعنی‌دار اسیدهای‌آلی با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس‌کازئی بر شاخص‌های خونی (درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول قرمز و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید) بود(P>۰/۰۵).ولی تعدادگلبول‌های‌سفید در تیمار ترکیبی پروبیوتیک *L. casei* و اسید آلی پتاسیم سوربات به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). که از نظر تعداد گلبول سفید با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. احتمالاً سایر اختلافات به‌دلایلی مانند نوع گونه ماهی، سن ماهی، شرایط پرورش و... می‌باشد.

کلسترول بعد از ساخته شدن در کبد در غشای ساختار سلولی به‌کارمی‌رود، هم‌چنین به شکل کلسترول صفراوی، اسیدهای صفراوی (کمک به هضم لیپیدها) و استرهای کلسترول (در کبد ذخیره شده یا توسط ذرات لیپوپروتئینی به سایر بافت‌ها انتقال می‌یابد) انتقال داده می‌شود. هم‌چنین بعضی از اندام‌ها مانند غدد فوق کلیوی و غدد جنسی از کلسترول به‌عنوان پیش‌ساز سنتز هورمون‌های استروئیدی استفاده می‌کنند(Lehninger، ۱۹۷۵). در بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی خون، براساس نتایج به‌دست‌آمده نمک پروپیونات سدیم موجب کاهش مقدار کلسترول در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد شد. البته این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵)، که احتمالاً این کاهش می‌تواند به‌دلیل بهبود سیستم ایمنی و در نتیجه کاهش میزان کلسترول در تیمارهای آزمایشی باشد.

میزان گلوکز به‌عنوان شاخص پاسخ به استرس مطرح می‌باشد چراکه این قند منبع انرژی مهمی جهت مقابله با استرس فیزیولوژیکی برای ماهی می‌باشد (Hanaee Kashani و همکاران، ۲۰۱۲). در بررسی‌های انجام شده در این مطالعه میزان گلوکز در تیمار ۲٪ دارای کم‌ترین مقدار بود البته این مقدار با گروه شاهد از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) و با دو تیمار دیگر به‌صورت معنی‌داری اختلاف وجود داشت (P<۰/۰۵). با این‌حال باتوجه به کمبود اطلاعات و تحقیقات کافی در زمینه اثرات نمک اسیدهای آلی بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون مانند گلوکز تحقیقات بیش‌تری را در آینده می‌طلبد.

سنجش سطح پروتئین‌های سرم خون شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت ایمنی‌شناسی ماهی می‌باشد (رضایی‌پور و همکاران، ۱۳۸۲). در تحقیق حاضر میزان آلبومین و پروتئین کل سرم خون اختلاف‌معنی‌داری‌رابین تیمارهای مورد مطالعه نشان نداد (P>۰/۰۵)، که عدم تغییر در میزان پروتئین خون می‌تواند به‌دلیل عدم استفاده از ذخایر پروتئینی در ماهی باشد (حاجی‌مرادی، ۱۳۸۶).

باتوجه به این‌که طول مدت‌زمان آزمایش نیز می‌تواند تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر شاخص‌های مورد بررسی‌داشته‌باشد(مهدوی‌و همکاران، ۱۳۹۳)، احتمالاً با افزایش دوره پرورش نتایج به‌دست آمده از سنجش فاکتورهای مورد بررسی در این تحقیق معنی‌دار شود. اگرچه در برخی فاکتورهای خونی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما نتایج ظاهری نشان‌دهنده برتری مقادیر مورد بررسی در تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی نمک پروپیونات سدیم در مقایسه با گروه شاهد می‌باشد. چرا که مواد محرک سیستم ایمنی لزوماً نمی‌توانند اثر معنی‌داری بر شاخص‌های هماتولوژیک از جمله تعداد گلبول قرمز، مقدار هموگلوبین و درصد هماتوکریت داشته باشند. این مطلب در مورد بسیاری از محرک‌های ایمنی مانند پربیوتیک و پروبیوتیک‌ها، عصاره‌های گیاهی گزارش شده است (جواهرزاده‌دزفول و همکاران، ۱۳۹۱؛ علیشاهی و همکاران، ۱۳۹۱؛مهاجراسترآبادی‌وهمکاران، ۱۳۹۱؛اکرمی‌و همکاران، ۱۳۹۰).

بررسی‌ها نشان می‌دهد که تحریک گلبول‌های سفید در ماهیان وصدف‌ها سبب بالارفتن‌تولیدآنتی‌بادی می‌شود(Gatesoupe، ۱۹۹۹)، هم‌چنین گلبول‌های سفید نقش مهمی در فعالیت‌های فاگوسیتوزی وپاسخ ایمنی به مبارزات باکتریایی، ویروسی و انگلی دارند (Houston، ۱۹۹۰). از آن‌جایی‌که فاکتورهای خونی در حیوانات خونسرد به‌ویژه ماهی تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند استرس، گونه، جنس، سن، شرایط تغذیه‌ای، دقت و حساسیت روش‌های اندازه‌گیری و... می‌باشد. این عوامل می‌تواند فعالیت فراسنجه‌های خونی را تحت تأثیر قرار دهد و در نتیجه باعث اختلاف در تفسیر نتایج می‌شود بنابراین شاخص قطعی برای بررسی وضعیت سلامتی و ایمنی ماهی به‌شمار نمی‌رود (Iwama و همکاران، ۱۹۹۶). لذا مطالعه سایر مؤلفه‌ها به جهت تکمیل مطالعه حاضر مانند بررسی بیان ژن‌های ایمنی و دیگر شاخص‌های ایمنی مانند لیزوزیم و کمپلمان تام نیز مورد نیاز می‌باشد.

در چند دهه اخیر استفاده از محرک‌های ایمنی طبیعی مانند اسیدهای آلی و نمک آن‌ها با توجه به مزیت‌های متعدد از جمله آثار جانبی کم‌تر بر موجود زنده و محیط زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان بودن، پایدار و در دسترس بودن مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. با توجه به نتایج حاصل از این بررسی، نمک پروپیونات سدیم به جیره‌غذایی می‌تواند سبب‌تقویت برخی مؤلفه‌های دخیل در سیستم ایمنی غیراختصاصی شود. اما مطالعات بیش‌تری می‌بایست به‌منظور تعیین اثر و میزان سطوح نمک پروپیونات سدیم بر فیزیولوژی ماهی کپور معمولی صورت پذیرد چرا که عوامل مختلفی از جمله گونه، سن، فیزیولوژی ماهی، ترکیب رژیم غذایی، نوع و سطح اسیدهای آلی و شرایط پرورشی می‌توانند بر پتانسیل عملکرد اسیدهای آلی در آبزی‌پروری اثرگذار باشند.

منابع

۱. **اکرمی، ر.؛ قلیچی، ا. و احمدی، ا.، ۱۳۹۰.** تأثیر پربیوتیک اینولین جیره غذایی بر شاخص‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون فیل‌ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۶، شماره ۲، صفحات ۱۳۱ تا ۱۳۶.

۲. **جافرنوده، ع.، ۱۳۹۵.** بررسی خواص سینرژیستی برخی اسیدهای آلی با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس‌کازئی (*Lactobacillus casei*) در پرورش بچه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پایان‌نامه جهت دریافت درجه دکترای تخصصی (Ph.D.) تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه ارومیه. ۱۳۵ صفحه.

۳. **جواهرزاده‌دزفول، ف.؛ علیشاهی، م.؛ چله‌مال‌دزفولی‌نژاد، م. و جواهری، م.، ۱۳۹۱.** تأثیر سطوح مختلف ویتامین C بر برخی شاخص های ایمنی و خونی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*). مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج. دوره ۶، شماره ۱، صفحات ۴۷ تا ۵۶.

۴. **مهاجراسترآبادی، م.؛ وهاب‌زاده، ح.؛ زمینی، ع.ع.؛ سوداگر، م. و قربانی، ر.، ۱۳۹۱.** تاثیر سطوح مختلف پربیوتیک ایمونوژن در جیره غذایی بر برخی از شاخص‌های خونی و ایمنی فیل‌ماهیان جوان. نشریه توسعه آبزی پروری. دوره۶، شماره ۱، صفحات ۱۳۱ تا ۱۴۰.

۵. **حاجی‌مرادی، م.؛ محبوبی‌صوفیانی، ن. و علامه، س.ک.، ۱۳۸۶.** اثر گرسنگی بر سطح کلسترول، گلوکز و پروتئین پلاسمای خون قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علوم و فنون دریایی. دوره ۶، شماره ۳، صفحات ۲۳ تا ۳۰.

۶. **رضایی‌پور، ر.؛ کمالی‌نژاد، م.؛ کاظمی‌فروز، ف. و فدایی، ش.، ۱۳۸۲.** بررسی اثرات چهار گیاه دارویی بر سیستم ایمنی سلولی. مجله علوم پزشکی. جلد ۱، شماره ۲، صفحات ۷۳ تا ۷۸.

۷. **ستاری، م.؛ شاهسونی، د. و شفیعی، ش.، ۱۳۸۲.** ماهی‌شناسی (۲). انتشارات حق‌شناس. چاپ اول، ۵۰۲ صفحه.

۸. **علیشاهی، م.؛ سلطانی، م.؛ مصباح، م. و زرگر، ا.، ۱۳۹۱.** اثرات تحریک ایمنی و رشد لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی در ماهی کپور معمولی (***Cyprinus caroio***). مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۷، شماره ۲، صفحات ۱۳۵ تا ۱۴۲.

۹. **فرزانفر، ع.، ۱۳۸۴.** تکثیر و پرورش آزاد ماهیان. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. ۱۸۰ صفحه.

۱۰. **گازرانی‌فراهانی، ش.، ۱۳۸۸.** بررسی برخی شاخص‌های هماتولوژیک در بعضی از ماهیان خانواده *Acipenseridae* . فصلنامه علمی پژوهشی زیست‌شناسی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان. سال ۲، شماره ۱، صفحات ۵۷ تا ۶۱.

۱۱. **مهدوی، س.؛ یگانه، س.؛ فیروزبخش، ف. و جانی‌خلیلی، خ.، ۱۳۹۳.** تأثیر مکمل اسانس رازیانه *Foeniculum vulgare* بر شاخص های رشد، بازماندگی، ترکیب لاشه و فراسنجه‌های خونی بچه‌ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*). مجله علوم و فنون شیلات. دوره ۳، شماره ۳، صفحات ۷۹ تا ۹۰.

۱۲. **وثوقی، غ.م. و مستجیر، ب.، ۱۳۸۳.** ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ ششم، ۳۱۷ صفحه.

۱۳. **Alderman, D.J., 2002.** Trends in therapy and prophylaxis. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists. Vol. 22, pp: 117-125.

۱۴. **Azarin, H.; Imanpoor, M.R.; Taghizadeh, V. and Shariyari, R., 2012**. Correlation between biochemical factors of blood with biological characteristics of gonad and some reproductive indices in Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). Global Veterinaria. Vol. 9, pp: 352-357.

۱۵. **Blaxhall, P.C. and Daisley, W., 1973.** Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology. Vol. 5, pp: 771-781.

۱۶. **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.

۱۷. **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.

۱۸. **Cherbut, C.; Aube, A.; Blottiere, H.and Galmiche, J., ۱۹۹۷.** Effects of short-chain fatty acids on gastrointestinal motility. Scandinavian journal of gastroenterology Supplement. Vol. 222, pp: 58-61.

۱۹. **Danilova, N., 2006.** The evolution of immune mechanisms. Journal of Experimental Zoology Part B Molecular and Developmental Evolution. Vol. 306, pp: 496-520.

۲۰. **Darias, M.J.; Mazurais, D.; Koumoundouros, G.; Le Gall, M.M.; Huelvan, C.; Desbruyeres, E.; Quazuguel, P.; Cahu, C.L. and Zambonino Infante, J.L., 2011.** Imbalanced dietary Ascorbic acid alter molecular pathways involved in Skeletogenesis of developing European Sea Bass *Dicentrarchus labrax*. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. Vol. 159, pp: 46-55.

۲۱. **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.

۲۲. **Da Silva, B.C.; Vieira, F.D.N.; Mourino, J.L.P.; Ferreira, G.S. and Seiffert, W.Q., 2014.** Butyrate and propionate improve the growth performance of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Research. Vol. 47, pp: 612-623.

۲۳. **Eidelsburger, U., 1998.** Feeding short-chain organic acids to pigs. In: Recent Advances in Animal Nutrition, Garnsworthy, P.C. and Wiseman, J. (Eds). Nottingham University press, Nottingham. pp: 93-106

۲۴. **FAO. 2010**.Year book, fishery and aquaculture statistics.

۲۵. **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.

۲۶. **Gatesoupe F.J., 1991.** Further advances in the nutritional and antibacterial treatments of rotifers as food for turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L. Aquaculture: a biotechnology in progress. Vol. 1, pp: 1-592.

۲۷. **Hanaee Kashani, Z.; Imanpoor, M.R.; Shabani, A. and Gorgin, S., 2012.** Effect of dietary vitamin C and highly unsaturated fatty acids on some biochemical blood parameters in goldfish (*Carassius auratus gibelio*). World Journal of Fish and Marine Sciences. Vol. 4, pp: 454-457.

۲۸. **Hayek, S.A.; Gyawali, R. and Ibrahim, S.A., 2013.** Antimicrobial Natural Products. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. pp: 910-921.

۲۹. **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.

۳۰. **Houston, A., 1990.** Blood and circulation, In: Shreck CB, Moyle PB (Editors). Methods for fish biology. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. 704 p.

۳۱. **Iwama, G. and Nakanishi, T., 1996.** The fish immune system. Academic Press, London. Chapter 3: innate Immunity in fish. 380 p.

۳۲. **Lehninger, A., 1975.** Biochemistry. Journal of Basic Microbiology. Vol. 17, pp: 86-87.

۳۳. **Luckstadt, C., 2008.** The use of acidifiers in fish nutrition. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science. Nutrition and Natural Resources. Vol. 3, pp: 1-8.

۳۴. **Kajita, Y.M.; Sakai, S. and Atsuta, M., 1990.** The immunonodulatory effects of levamisole on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish Pathology. Vol. 25, pp: 93-98.

۳۵. **Marian, M.P., 2004.** Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against Vibrio harveyi infections. Aquaculture. Vol. 237, pp: 9-20.

۳۶. **Martínez, S.G.J.; Castañeda, P.R.; Guzmán, A.G.; Sauceda, V.M.L.; Castro, R.J.L. and Acosta, H.M., 2016**. Effects of the addition of a marigold extract to diets fed to channel catfish (*Ictalurus punctatus*) on growth parameters. Iranian Journal of Fisheries Sciences. Vol. 14, pp: 797-804.

۳۷. **Mulcahy, M.F., 1975.** Fish blood changes associated with disease: a hematological study of pike lymphoma and salmon ulcerative dermal necrosis. In: Ribelin, W.E., Migaki Madison, C. (Eds.), The Pathology of Fishes. University of Wisconsin, Wisconsin, USA. pp: 925-944.

۳۸. **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.

۳۹. **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.

۴۰. **Ng, W.K. and Koh, C.B., 2016**. The utilization and mode of action of organic acids in the feeds of cultured aquatic animals. Reviews in Aquaculture**.** Vol. 0, pp: 1-27.

۴۱. **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.

۴۲. **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.

۴۳. **Partanen, K.H. and Mroz, Z., 1999.** Organic acids for performance enhancement in pig diets. Nutrition Research Reviews. Vol. 12, pp: 117-145.

۴۴. **Perez-Sanchez, T.; Balcazar, J.L.; Merrifield, D.; Carnevali, O.; Gioacchini, G. and Blas, I.D., 2011.** Expression of immune-related genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced by probiotic bacteria during *Lactococcus garvieae* infection. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 31, pp: 196-201.

۴۵. **Raftari, M., 2009.** Antibacterial activity of organic acids on the growth of selected bacteria in meat samples. Food Science and Technology. Malaysia: Universiti Putra Malaysia. 111 p.

۴۶. **Ramli, N.; Heindl, U. and Sunanto, S., 2005.** Efect of potassium diformate on growth performance of tilapia challenged with Vibrio anguillarum. Abstract, World Aquaculture, Bali, Indonesia.

۴۷. **Rawling, M.D.; Merrifield, D.L. and Davies, S.J., 2009.** Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit® on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. Aquaculture. Vol. 294, pp: 118-122.

۴۸. **Safari, R.; Hoseinifar, S.H.; Nejadmoghadam, SH. and Jafar, A., 2016.** Transciptomic 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.

۴۹. **Shahsavani, D.; Mohri, M. and Gholipour Kanani, H., 2010.** Determination of normal values of some blood serum enzymes in *Acipenser stellatus* Pallas. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 36, pp: 39-43.

۵۰. **Shalaby, A.M.; Khattab, Y.A. and Abdelrahman, A.M., 2006.** Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal Venomous Animal Toxins Including Tropical Diseases. Vol. 12, pp: 172-201.

۵۱. **Siwicki, A.K.; Zakes, Z.; Fuller, J.C.; Nissen, S.; Trapkowska, S. and Glabski, E., 2005**. β-hydroxy-β-methylbutyrate on nonspecific humoral defensemechanisms and protection against furunculosis in pikeperch (*Sander lucioperca*). Aquaculture Research. Vol, 37. pp: 127-31.

۵۲. **Skrivanova, E.; Marounek, M.; Benda, V. and Brezina, P., 2006.** Susceptibility of ***Escherichia coli***, Salmonella sp. and *Clostridium perfringens* to organic acids and monolaurin. Veterinarni Medicina. Vol. 3, pp: 81-88.

۵۳. **Tangestani, R.; Alizade dughikolaei, E.; Ebrahimi, E. and Zare, P., 2011.** Effect of garlic (*Allium sativum*) essential oil as an immunostimulant on hematological indices of juvenile beluga (*Huso huso*). Journal of Veterinary Research. Vol. 66, pp: 209-214.

۵۴. **Thrall, M.A., 2004**. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Lippincott Williams and Wilkins, USA. pp: 241-402.

۵۵. **Wing-Keong, N.; Chik-Boon, C.; Kumar, S. 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.

۵۶. **Zhang, W.H.; Jiang, Y.; Zhu, Q.F., Gao, F., Dai, S.F.; Chen, J. and Zhou, G.H., 2011**. Sodium butyrate maintains growth performance by regulating the immune response in broiler chickens. British Poultry Science. Vol. 52, pp: 292-301.

۵۷. **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.