اثرات تغذیه‌ای اسید بوتیریک خوراکی در ماهی کلمه خزری (*Rutilus caspicus*) در مواجهه با استرس شوری

محمد مازندرانی[1*]، محمد سوداگر[1]، ولی‌اله جعفری[1]، علی جافرنوده[1]، فرهاد بزی[1]

۱-گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ٤٩١٨٩٤٣٤٦٤

*mazandarani@gau.ac.ir

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹٦ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹٦

چکیده

در بررسی حاضر اثرات اسید بوتیریک خوراکی بر پارامترهای رشد و مقاومت در مواجهه با استرس شوری در ماهی کلمه خزری (*Rutilus caspicus*) مورد مطالعه قرار گرفته است به این منظور تعداد ۲۴۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی ۱/۰۳ ± ۱۰ گرم تهیه شده و در ۱۵ تانک فایبرگلاس به ابعاد ۱/۵ ×۱/۵ متر و حجم آبگیری ۶۰ لیتر (تعداد۲۰ قطعه ماهی در هر تانک) تقسیم شدند. در این بررسی ۳ گروه تیمار و یک گروه کنترل (در سه تکرار برای هر گروه) در نظر گرفته شده و پس ۲ هفته سازگاری ماهیان گروه تیمار با سطوح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد اسید بوتیریک در جیره غذایی به مدت ۶۰ روز تغذیه شدند. ماهیان گروه شاهد تنها با غذای پایه مورد تغذیه قرار گرفتند. پس دوره پرورش تمامی ماهیان به مدت ۱۲ ساعت مورد مواجهه با استرس شوری ۱۰ گرم‌درلیتر قرار گرفتند و شاخص‌های استرس (کورتیزول و گلوکز) در طی ۷۲ پس از مواجهه مورد بررسی و سنجش قرار گرفت. بر اساس نتایج در تمامی گروه‌های تیمار تغذیه شده با سطوح متفاوت اسید بوتیریک شاخص‌های رشد به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد پایین‌تر ثبت گردید($p<0/05$). در عین حال مقادیر کروتیزول در ماهیان گروه شاهد در زمان‌های مختلف پس از تنش شوری تا ۷۲ ساعت پس از تنش در مقایسه با گروه‌های تغذیه شده با جیره غذایی حاوی اسید بوتیریک پایین‌تر ثبت گردید. که نشان دهنده افزایش استرس در شرایط مواجهه با شوری در ماهیان گروه تیمار است.

کلمات کلیدی: اسید بوتیریک، شاخص‌های رشد، تنش شوری

مقدمه

امروزه یکی از چالش‌های عمده در صنعت آبزی‌پروری، بهبود کیفیت جیره غذایی فرموله شده به‌منظور بهینه‌سازی میزان رشد، ارتقای سلامت و افزایش عملکرد سیستم ایمنی آبزیان است (اکرمی و همکاران، ۱۳۸۷). در این راستا، استفاده از مکمل‌های غذایی، یکی از راهکارهای بهبود شاخص‌های رشد، تغذیه و افزایش میزان بازماندگی آبزیان می‌باشد (ذکریائی و سوداگر، ۱۳۹۵). از این‌رو، تاکنون برخی از مکمل‌ها و افزودنی‌های جیره‌ی غذایی مانند: رنگدانه‌ها (Buttle *et al*., 2017)، پروبیوتیک‌ها (خادمی و همکاران، ۱۳۹۲)، پریبیوتیک‌ها (سوداگر و همکاران، ۱۳۹۶؛ حاجی‌بگلو، ۱۳۸۹)، مکمل‌های گیاهی (مورکی و همکاران، ۱۳۹۳)، ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها (سوداگر و همکاران، ۱۳۹۴)، اسیدهای آمینه (سوداگر و همکاران، ۱۳۸۶) و اسیدهای آلی (جافرنوده و همکاران، ۱۳۹۵) مورد استفاده قرار گرفته‌اند. اسیدهای آلی به دسته‌ای از اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه (C1-C7) و اسیدهای کربوکسیلیک ضعیف اطلاق می‌گردد که در ساختارشان دارای یک یا بیش از چند گروه کربوکسیل می‌باشند (Wing-Keong *et al*., 2009) که آن دسته از ترکیبات با ۱ تا ۷ اتم کربن دارای خاصیت ضدباکتریایی می‌باشند (Eidelsburger, 1998). از سویی دیگر، برخی از اسیدهای آلی می‌توانند مستقیماً به‌عنوان اسیدی‌کننده و هیدرولیزکننده رشد باکتری‌ها به جیره غذایی آبزیان افزوده گردند. در بررسی‌های متعددی اثرات تغذیه‌ای اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها در جیره غذایی ماهیان مورد بررسی قرار گرفته است و در بسیاری گزارشات این ترکیبات باعث افزایش رشد و افزایش میزان مقاومت آبزیان در برابر بیماری‌ها شده است (Sarker *et al*., ؛ Baruah *et al*., 2007a,b؛ Luckstadt, 2008a; 2007). از جمله اسیدهای آلی می‌توان به اسید پروپیونیک، اسید لاکتیک، اسید فومیک، اسید مالیک و اسید بوتیریک اشاره نمود (Luckstadt, 2008b).

اسید بوتیریک یک اسیدآلی مایع ۴ کربنه بوده که دارای فرمول شیمیایی C_3H_7COOH می‌باشد. این اسید آلی علاوه بر دارا بودن خاصیت ضدباکتریایی، به عنوان محرک رشد نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد (Guilloteau *et al*., 2010). هم‌چنین دارای اثرات مهارکنندگی در برابر رشد باکتری‌ها بوده و در نهایت سبب کاهش تولید سم توسط این باکتری‌ها می‌گردد (Langhout, 2000). در ارتباط با بررسی اثرات اسید بوتیریک در جیره غذایی آبزیان تحقیقات محدودی وجود دارد. با این‌حال می‌توان به بررسی اثرات مکمل‌سازی جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با بوتیرات سدیم به همراه افزایش دمای اکسترود (Hamer *et al*., 2008)، افزودن بوتیرات سدیم به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان و بررسی اثر آن بر قابلیت هضم (Morken *et al*., 2010) و اثر افزودن بوتیرات سدیم به جیره غذایی گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) در ارتباط با تغییر فلور باکتریایی دستگاه گوارش (Owen *et al*., 2006) اشاره کرد.

ماهی کلمه خزری *Rutilus caspicus* که گونه‌ای یوری‌هالین و یوری‌ترم می‌باشد، یکی از ماهیان با ارزش رودخانه‌های منتهی به دریایی خزر و کرانه‌های شمالی این دریا است (فرخی و همکاران، ۱۳۹۴) که البته میزان ذخایر آن در چند دهه اخیر به دلایل مختلفی از جمله: آلودگی محیط زیست آن به شدت کاهش یافته و جزء گونه‌های در معرض تهدید منطقه مذکور محسوب می‌گردد(Kiabi *et al*., 1999). اگرچه این گونه مهم دریایی دارای ارزش اقتصادی بسیار بالایی می‌باشد، با این‌حال در عمل جزو ماهیان پرورشی به حساب نمی‌آید لذا مطالعات بسیار اندکی در ارتباط با جیره دستی سازگار با این ماهی صورت گرفته است. ضمن این که تکثیر و پرورش ماهی کلمه جهت حفظ و بازسازی ذخائر این گونه، به‌عنوان غذای اصلی ماهیان خاویاری، امری است که انجام آن ضروری به‌نظر می‌آید (سالنامه آماری شیلات ایران ۱۳۹۳). لذا در این راستا، با توجه به اهمیت بالای ماهی کلمه به عنوان جیره غذایی اصلی و ضروری گونه‌های با ارزشی هم‌چون ماهیان خاویاری و هم‌چنین خواص ویژه‌ی اسیدهای آلی در افزایش مقاومت آبزیان، هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثرات اسید بوتیریک خوراکی در جیره غذایی بچه ماهیان کلمه خزری بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر تنش شوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط آزمایش: این طرح آزمایشی به‌مدت دوماه در مرکز آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام پذیرفت. در این تحقیق، ابتدا تعداد ۲۴۰ قطعه بچه ماهی کلمه خزری با میانگین وزنی ۱/۰۳±۱۰ گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال تهیه و در ونیرویی با ابعاد ۱/۵×۱/۵ متر با ارتفاع آبگیری ۴۰ سانتی‌متر، نگهداری شدند. مدت زمان

دوهفته جهت سازگاری بچه ماهیان با شرایط محیط پرورشی در نظر گرفته شد. در طی این مدت ماهیان به میزان ۳٪ وزن بدن توسط غذای تجاری (انرژی، ساخت شرکت ماهیران) مورد تغذیه قرار گرفتند.

مراحل انجام آزمایش: بچه ماهیان کلمه خزری بین ۱۲ ونیرو با حجم آبگیری ۶۰ لیتر تقسیم شدند (تعداد ۲۰ قطعه ماهی در هر ونیرو) و به منظور بررسی اثرات تغذیه‌ای اسید بوتیریک در جیره غذایی، ماهیان به گروه‌های تیمار و شاهد تقسیم شدند. در این راستا سه گروه تیمار برای ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی اسید بوتیریک با سه سطح ۰/۵، ۱ و ۲ درصد به ازای واحد کیلوگرم جیره غذایی و یک گروه شاهد با سه تکرار در نظر گرفته شدند. بچه ماهیان روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن (در صورت غذاگیری ماهیان) با غذای تجاری (انرژی شرکت ماهیران) به مدت ۲ ماه غذادهی شدند. جهت تعیین شاخص‌های رشد بچه ماهیان طی مدت زمان آزمایش، عملیات زیست‌سنجی هر ۲ هفته یک‌بار انجام شد و در پایان دوره شاخص‌های رشد بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Turchini *et al*., 2013):

۱) افزایش وزن بدن (WG[1]):

$$BWI = Wt2 - Wt1$$

گرم وزن اولیه ماهی= Wt1، گرم وزن نهایی ماهی= Wt2

۲) درصد افزایش وزن بدن (WGP[2]):

$$WGP = (Wt2 - Wt1)/ Wt1 \times 100$$

گرم وزن اولیه ماهی= Wt1، گرم وزن نهایی ماهی= Wt2

۳) نرخ رشد ویژه (SGR[3]):

$$SGR\ (\%\ /day) = [(LnWt2 - LnWt1) / t2- t1] \times 100$$

لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی= LnWt1، لگاریتم طبیعی نهایی ماهی= LnWt2، طول دوره آزمایش= t2- t1

محاسبه شاخص‌های تغذیه‌ای

۴) فاکتور وضعیت (CF[4]):

$$Condition\ Factor = Wt2 / (FL)3$$

وزن نهایی ماهیان (گرم)= Wt2، طول نهایی ماهیان (سانتی-متر)= FL

۵) درصد زنده‌مانی (Survival rate):

$$Survival\ rate = (Nt - N0) \times 100$$

تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش= Nt، تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش= N0

تنش شوری غیرکشنده و فرآیند خون‌گیری: پس از گذشت ۶۰ روز از تغذیه ماهیان با جیره غذایی آزمایشی حاوی سطوح متفاوت اسید بوتیریک، شاخص‌های استرسی ماهیان در مواجهه با شوری غیرکشنده، مورد بررسی قرار گرفت. در این راستا، ماهیان تمامی تیمارها به مدت ۱۲ساعت تحت تنش شوری ppt ۱۰ قرار گرفته و مجدداً به حالت اولیه برگردانیده شدند. سپس، جهت انجام بررسی‌های سرولوژی، در ۶ دوره زمانی شامل: قبل از تنش شوری (خونگیری اول)، بلافاصله پس از تنش شوری (خونگیری دوم)، ۱۲ ساعت پس از تنش شوری (خونگیری سوم)، ۲۴ ساعت پس از تنش شوری (خونگیری چهارم)، ۴۸ ساعت پس از تنش شوری (خونگیری پنجم) و ۷۲ ساعت پس از تنش شوری (خونگیری ششم) عملیات خون‌گیری انجام شد. برای انجام این‌کار، تعداد ۷ قطعه ماهی از هر تیمار انتخاب و از قسمت ساقه دمی (انتخاب ماهی‌ها به‌صورت تصادفی از هر تانک صورت گرفت) با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی آغشته به هپارین، خونگیری و درون تیوپ‌های ۱/۵ سی‌سی ریخته شدند و با استفاده از سانتریفیوژ با دور ۵۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه پلاسمای خون از بقیه اجزای آن جدا و توسط سمپلر به تیوپ‌هایی که مشخصات مربوط به هر گروه روی آن درج گردیده بود، انتقال یافتند. لازم به ذکر است تا لحظه اتمام مراحل آزمایش دمای نگه‌داری تیوپ‌های حاوی خون $-20\ ^{\circ}C$ ثبت شد.

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی خون: جهت سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی، گلوکز با استفاده از کیت تجاری پارس‌آزمون و با دستگاه اسپکتروفتومتری (Biochrom, libra S12) و براساس دستورالعمل داخل کیت‌ها و کورتیزول نیز با استفاده از کیت تجاری IBL و با دستگاه الایزا (مدل UNISCO 2100) اندازه‌گیری شد.

[1] Weight gain

[2] Weight growth percent

[3] Specific growth rate

[4] Feed conversion ratio

مقاومت و بازماندگی بچه ماهیان کلمه خزری در مواجهه با تنش شوری کشنده

به‌منظور تعیین قابلیت بازماندگی بچه ماهیان کلمه خزری، تعداد ۱۲ قطعه بچه ماهی از تمامی گروه‌های مورد آزمایش انتخاب و جهت القاء استرس، در مواجهه با شوری ۱۸ گرم در لیتر قرار گرفتند و میزان بازماندگی ماهیان طی۷۲ ساعت ثبت گردید. در این آزمایش میزان تلفات هر ۱۲ ساعت ثبت می‌شد.

وضعیت فیزیکوشیمیایی آب محیط پرورشی بچه ماهیان کلمه خزری: در هر تانک، جهت هوادهی ملایم از سنگ هوای متصل به کمپرسور مرکزی استفاده می‌شد. به‌علاوه، ضایعات غذایی و مدفوع ماهیان به کمک سیفون و یکبار در روز از محیط پرورش خارج می‌گردید. فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل: دما، pH، اکسیژن محلول و شوری آب به صورت روزانه اندازه گیری و به‌ترتیب ۲۴±۱/۴ °C، ۸±۰/۲، ۶/۱±۰/۱ (میلی‌گرم در لیتر)، ۰/۱ ppt ثبت شد. جهت انجام این آزمایش از آب شهری استفاده شد که به مدت ۲۴ ساعت درون مخازن ذخیره هوادهی می‌شد تا کلر آن از بین برود.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه ۵ انجام و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن۶ استفاده شد. اختلاف بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان ۹۵٪ تعیین گردید. برای عملیات آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ استفاده شد. تمام داده‌های متن براساس میانگین±انحراف معیار ارائه شدند.

نتایج

اثرات سطوح مختلف اسید بوتیریک بر شاخص‌های رشد و نرخ بقاء: بر اساس نتایج حاصل از درصد بقای بچه ماهیان کلمه خزری تغذیه شده با سطوح مختلف اسید بوتیریک در طی ۶۰ روز پرورش، هیچ تلفاتی در گروه‌های مختلف مورد بررسی مشاهده نگردید. .به‌علاوه، شاخص‌های رشد در ماهیانی که با سطوح مختلف اسید بوتیریک تغذیه شدند، به‌طور معنی‌دار در مقایسه با ماهیان گروه شاهد کم‌تر بود (p<۰/۰۵). به‌طوری که در تمامی ماهیان گروه تیمار میانگین وزن انتهای دوره، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن در مقایسه با ماهیان گروه تیمار پایین‌تر ثبت گردید (p<۰/۰۵). با این‌وجود،، تفاوت معنی‌داری برای شاخص وضعیت (CF) بین تمامی گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نگردید (p>۰/۰۵).

بازماندگی ماهیان تغذیه شده با اسید بوتیریک در مواجهه با تنش شوری کشنده: بر اساس وضعیت تلفاتی ماهیان گروه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف اسید بوتیریک مواجهه داده شده با شوری کشنده ۱۸ گرم در لیتر مشخص گردید که اولین تلفات ۲۴ ساعت پس از مواجهه در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف اسید بوتیریک رخ داد. هم‌چنین، در ماهیان گروه شاهد در طی ۴۸ ساعت اول پس از مواجه۱ه هیچ تلفاتی ثبت نگردید و در نهایت پس از ۶۰ ساعت، ۴۰ درصد از ماهیان گروه شاهد و بین ۷۰ تا ۱۰۰ درصد از ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی اسید بوتیریک تلف شدند.

بررسی مقادیرکورتیزول و گلوکز پس از تنش شوری غیر کشنده: وضعیت مقادیر کورتیزول موجود در سرم خون موجودات از جمله آبزیان به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های هورمونی استرس در طی دوره‌های زمانی مختلف بوده که در این آزمایش میزان کورتیزول پس از مواجهه با شوری غیر کشنده (۱۰ گرم در لیتر) در گروه‌های مختلف تغذیه شده با سطوح مختلف اسید بوتیریک در جدول ۲ نشان داد که این شاخص در تمامی گروه‌ها بلافاصله پس از تنش شوری به شدت افزایش یافت اما، این افزایش در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف اسید بوتیریک به‌طور معنی‌دار بالاتر از گروه شاهد بود(p<۰/۰۵). ۷۲ ساعت پس از تنش شوری، مقادیر کورتیزول در تمامی گروه‌ها نسبت به زمان بلافاصله پس از تنش به‌طور معنی‌دار کاهش یافت اما تا ۴۸ ساعت پس از تنش هنوز مقادیر کورتیزول در ماهیان گروه شاهد نسبت به سایر گروه‌های تیمار کمتر ثبت گردید (p<۰/۰۵).

[5] . ANOVA

[6] . Dancan

جدول ۱: شاخص‌های رشد در بچه ماهیان کلمه خزری تغذیه شده با سطوح مختلف اسید بوتیریک در مدت ۶۰ روز

شاخص‌های رشد	٪۲اسیدبوتیریک	٪۱اسیدبوتیریک	٪۰/۵اسیدبوتیریک	گروه شاهد
میانگین وزن ابتدای دوره (گرم)	۱۰/۸۸± ۰/۸۲ a	۱۱/۴۵ ± ۲/۳۷ a	۱۰/۵۳ ± ۱/۱۵ a	۱۱/۵۵ ± ۱/۸۳ a
میانگین وزن انتهای دوره (گرم)	۱۵/۱۰ ± ۲/۳۹ a	۱۲/۷۲ ± ۲/۴۸ bc	۱۱/۸۰ ±۱/۴۶ c	۱۳/۲۰ ±۱/۴۴ b
میانگین طول انتهای دوره (سانتی‌متر)	۱۱/۳۹ ± ۰/۶۳ a	۱۰/۷۲ ±۰/۴۹ b	۱۰/۷۰ ±۰/۷۷ b	۱۰/۹۸ ± ۰/۷۸ b
افزایش وزن بدن (گرم)	۴/۵۵ ± ۱/۱۵ a	۱/۲۸ ±۰/۵۰ b	۱/۲۷ ± ۰/ ۴۱ b	۱/۶۵ ± ۰/۴۰ b
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۰/۲۶ ± ۰/۰۵ a	۰/۰۸ ± ۰/۰۴ b	۰/۰۸ ± ۰/۰۳ b	۰/۱۰ ± ۰/۰۲ b
درصد افزایش وزن بدن	۴۶/۰۶ ± ۱۰/۰۷ a	۱۱/۴۲ ± ۵/۴۱ b	۱۲/۰۶ ± ۳/۹۸ b	۱۴/۳۴ ± ۳/۸۳ b
شاخص وضعیت	۱/۰۲ ± ۰/۰۲ a	۱/۰۳ ± ۰/۰۲ a	۰/۹۶ ± ۰/۰۵ a	۱/۰۰ ± ۰/۰۳ a
نرخ بقا (درصد)	۱۰۰ a	۱۰۰ a	۱۰۰ a	۱۰۰ a

حروف انگلیسی در هر ردیف، نشان‌دهنده وجود تفاوت معنادار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است.

جدول ۲: تغییرات کورتیزول خون بچه ماهیان کلمه خزری تغذیه‌شده با سطوح مختلف اسید بوتیریک تحت تنش شوری ۱۰ ppt

کورتیزول	٪۲اسید بوتیریک	٪۱ اسیدبوتیریک	٪۰/۵ اسید بوتیریک	گروه شاهد
قبل از تنش	۱۶۷/۲۱ ±۲۲/۱۵ a E	۱۵۳/۴۱±۲۳/۴۱ a D	۱۷۳/۳۵±۳۲/۳۱ a E	۱۶۳/۴۶ ±۲۴/۲۶ a E
بلافاصله بعد از تنش	۶۴۵/۱۱ ±۴۳/۳۸ b A	۷۶۱/۲۳ ±۳۸/۵۷ a A	۸۱۳/۲۱±۳۳/۱۸ a A	۷۸۹/۱۱±۳۵/۶۴ a A
۱۲ ساعت بعد از تنش	۵۴۱/۱۳±۳۳/۱۴ b B	۷۰۲/۳۴ ±۳۲/۳۹ a A	۶۹۷/۳۲±۴۳/۵۴ a B	۶۵۰/۱۳±۲۰/۹۸ ab B
۲۴ ساعت بعد از تنش	۳۴۶/۴۲ ±۲۲/۶۰ b C	۵۴۷/۱۸±۴۵/۱۲ a B	۶۰۱/۴۴ ±۳۵/۵۹ a C	۵۶۸/۸۸±۳۹/۴ a C
۴۸ ساعت بعد ازتنش	۲۸۰/۱۴ ±۲۶/۸۶ b D	۳۸۰/۱۴±۴۴/۲۸ a C	۳۶۵/۴۶ ±۳۹/۶۸ a D	۳۶۹/۵±۲۱/۱۷ a D
۷۲ ساعت بعد از تنش	۲۸۹/۴۵±۳۴/۸۸ a D	۳۱۰/۶۶±۴۳/۴۴ b C	۴۰۲/۳۳±۳۵/۸ a D	۳۸۰/۸۶±۳۶/۴۵ a D

حروف انگلیسی بزرگ غیرمشابه در هر ردیف و حروف انگلیسی کوچک غیرمشابه در هر ستون و حروف انگلیسی کوچک در هر ردیف، بیانگر اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ است. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است.

بر اساس نتایج حاصل از سنجش مقدار گلوکوز در بچه ماهیان کلمه خزری، مشخص گردید که مقادیر گلوکز در ماهیان گروه شاهد قبل از تنش شوری در مقایسه با ماهیانی که با سطوح مختلف اسید بوتیریک تغذیه شدند بطور معنی‌دار بالاتر بود. بلافاصله پس از تنش شوری نیز مقادیر گلوکز در ماهیان گروه شاهد بالاتر از سایر گروه‌های تیمار ثبت شد اما در بررسی ۱۲ ساعت پس از تنش شوری مقادیر گلوکز در تمامی گروه‌های مورد بررسی فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($p>0/05$). همچنین در این بررسی سطح گلوکز در تمامی گروه‌های مورد آزمایش در طی ۷۲ ساعت پس از تنش بطور نسبتاً یکنواخت نسبت به زمان بلافاصله پس از تنش کاهش یافت ($p<0/05$)، که این میزان در ماهیان گروه شاهد در زمان ۷۲ ساعت پس از تنش نسبت به زمان قبل از تنش پایین‌تر گزارش شد.

جدول۳: تغییرات گلوکز خون بچه ماهیان کلمه خزری تغذیه شده با سطوح مختلف اسید بوتیریک تحت تنش شوری ۱۰ ppt

گلوکز	٪۲ اسیدبوتیریک	٪۱ اسیدبوتیریک	۰/۵ اسیدبوتیریک	گروه شاهد
قبل از تنش	۱۲۸/۴۴±۱۴/۲۳ a C	۸۴/۲۱±۲۱/۲۲ b D	۶۸/۴۸±۳۷/۲۶ b D	۹۳/۴۵±۲۸/۴۵ ab C
بلافاصله بعد از تنش	۳۴۲/۸۸±۲۶/۶۴ a A	۲۸۰/۸۴±۲۱/۶۵ b A	۲۴۵/۶۴±۲۳/۶۶ bc A	۲۳۹/۹۰±۲۴/۲۴ c A
۱۲ ساعت بعد از تنش	۱۴۷/۶۲±۱۱/۶۴ a B	۱۶۸/۵۸±۲۸/۹۳ a B	۱۷۰/۲۷±۱۸/۴۳ a B	۱۵۴/۴۳±۱۶/۵۴ a B
۲۴ ساعت بعد از تنش	۱۵۳/۴۱±۱۲/۲۶ a B	۱۷۴/۲۹±۱۵/۸۴ a B	۱۶۴/۱۸±۱۹/۲۱ a B	۱۶۹/۸۷±۱۱/۳۴ a B
۴۸ ساعت بعد ازتنش	۱۴۸/۴۳±۱۶/۱۶ a B	۱۲۸/۶۳±۱۶/۶۶ a C	۱۳۰/۶۸±۹/۶۴ a C	۱۴۹/۸۴±۱۶/۶۲ a B
۷۲ ساعت بعد از تنش	۹۸/۸۴±۱۵/۶۲ a D	۹۰/۲۹±۱۶/۶۱ a D	۱۰۱/۲۵±۱۸/۴۱ a D	۱۲۲/۱۵±۱۱/۸۴ a C

حروف انگلیسی بزرگ غیرمشابه در هر ردیف و حروف انگلیسی کوچک غیرمشابه در هر ستون و حروف انگلیسی کوچک در هر ردیف، بیانگر اختلاف معنادار در سطح ۰/۰۵ است. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار است.

بحث

صنعت آبزی‌پروری در چند دهه اخیر رشد و توسعه فراوانی داشته که در راستای این رشد و توسعه، انجام تحقیقات در ارتباط با جنبه‌های مختلف تکثیر و پرورش ماهیان حائز اهمیت می‌باشد. علی‌رغم انجام مطالعات فراوان در زمینه اثرات افزودن مکمل‌های غذایی مانند: پروبیوتیک‌ها و سینبیوتیک‌ها، رنگدانه‌ها، ریزجلبک‌ها و مکمل‌های گیاهی و اسیدهای آمینه به جیره غذایی ماهیان و بررسی کارایی رشد، ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها، ،مطالعات محدودی در زمینه اثرات احتمالی و مکانیسم اثر اسیدهای آلی در ماهیان صورت پذیرفته است (ذکریائی و همکاران، ۱۳۹۴؛ حسینی‌فر و ظهیری، ۱۳۹۴؛ حقی‌پور و همکاران، ۱۳۹۴؛ حسینی و همکاران، ۱۳۹۵؛ بیابانی و همکاران، ۱۳۹۶). در تحقیق حاضر، افزودن اسیدآلی بوتیریک به جیره غذایی ماهی کلمه خزری نشان داد که استفاده از این اسیدآلی به میزان ۰/۵ تا ۲ درصد در جیره غذایی، نه تنها سبب بهبود عملکرد رشد نشد، بلکه منجر به بروز اثرات منفی شاخص‌های رشد گردید. به‌طوری که میزان افزایش وزن در گروه شاهد ۳ برابر بیش‌تر از برخی از تیمارها بود. گه نتایج این تحقیق مطابق با نتلیج حاصل از بررسی محمدی (۱۳۹۰) می‌باشد. با این‌حال، اثرات مثبت تغذیه‌ای اسیدهای آلی و نمک‌های آن روی رشد ماهیان گونه-های گربه ماهی (*Clarias gariepinus*) (Owen *et al*., 2006)، ماهی سیم (*Pagrus major*). (Hossain *et al*., 2007)، و روهو (*Labeo rohita*) (Baruah *et al*., 2007a,b) و میگوی وانامی (*Litopenaeus vanamei*) (Romano *et al*., 2015) مورد تایید قرارگرفت و ثابت شد که افزودن اسیدهای آلی منجر به افزایش شاخص‌های رشد، قابلیت هضم و بهبود کیفیت پرزهای روده می‌گردد. هم-چنین در بررسی Christiansen و Luckstadt (۲۰۰۸) مشخص شد که نرخ رشد ویژه سالمون آتلانتیک تغذیه شده با پودر ماهی غنی سازی شده با ۱/۴٪ دی فورمات پتاسیم (نمک پتاسیم اسید فرمیک بالاتر از تیمار کنترل منفی بود. افزون بر این، ضریب تبدیل غذایی در گروه-های تغذیه شده با پودر ماهی غنی شده با سطوح ۰/۸ و ۱/۴ درصد دی فورمات پتاسیم به طور معنی‌داری بهبود یافته و از لحاظ شکلی، ریخت یکسانی در میان سایر گروه‌های ماهی داشتند. چنین نتایجی در مطالعات گذشته روی سالمون‌های تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی پودر ماهی و دی فورمات پتاسیم به‌دست آمد و مشخص گردید که تیمارها دارای نرخ رشد بالاتر و قابلیت هضم پروتئین و چربی بهتری نسبت به گروه شاهد می‌باشند (Luckstadt, 2008). از سویی دیگر، در یک بررسی Vazquez و همکاران (۲۰۰۵) اثر کشت‌های باکتریایی اسید لاکتیک را بر میکروبیوتای پاتوژنیک ماهی کفشک (*Scophthalmus maximus*) مورد بررسی قرار دادند و مشاهده شد که در تمامی تیمارها، مصرف باکتری‌های اسید لاکتیک از اسیدهای استیک و لاکتیک در مقایسه با مصرف باکتریوسین‌ها، سبب جلوگیری از رشد گونه‌های پاتوژنیک در ماهیان کفشک شد. این چنین کشت‌های باکتریایی فقط زمانی موثرند که ماهیان کفشک حتما با جیره غذایی غنی شده با اسیدهای آلی تغذیه شده باشند. از آن‌جایی که اثرات اسیدهای آلی و نمک‌های آن بر شاخص‌های رشد و افزایش مقاومت ماهی در برابر پاتوژن‌های مضر به گونه ماهی، نوع و میزان اسید آلی و یا نمک آن بستگی دارد (Ng *et al*., 2011; Wing-Keong *et al*., 2009؛ Romano *et al*., 2015؛ Luckstadt, 2008a). می‌توان چنین بیان نمود که چرا این موضوع در بسیاری از موارد و در سایر گونه‌های تغذیه شده با اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها متفاوت‌تر از نتایج این تحقیق بوده که در تحقیق حاضر عدم افزایش رشد در گروه‌های تیمار، ممکن است به‌دلیل عدم تمایل بچه ماهیان کلمه خزری به غذاگیری با جیره غذایی حاوی اسید بوتیریک بوده باشد.. لذا؛ این اثرات منفی در رشد ممکن است ناشی از این امر باشد که البته برای اثبات این موضوع بررسی بیشتری نیاز است.

در بررسی‌های متعدد مشخص گردید که افزودن اسیدهای آلی و یا نمک‌های آن‌ها به جیره غذایی آبزیان سبب افزایش مقاومت و ایمنی بدن در مواجهه با پاتوژن‌های مضر و بیماری‌زا می‌گردد. تحقیقات نشان داد که این ترکیبات از طریق افزایش یون H^+ باعث کاهش pH لومن روده و معده شده که در نتیجه مانع رشد باکتری‌های بیماری‌زا می‌گردند. از سویی دیگر با افزایش pH، باکتری‌های اسید لاکتیک نیز افزایش یافته که در نهایت قابلیت هضم نیز افزایش می‌یابد. از آن‌جایی که در دوره‌های اولیه زندگی موجودات میزان جذب مواد غذایی بالاست و یا در زمانی که میزان پروتئین غذا زیاد باشد، غلظت اسید هیدروکلریک معده کاهش یافته که این کاهش بر فعال‌سازی پپسین و ترشح آنزیم پانکراتیک اثر گذاشته و سبب ایجاد اختلال در هضم غذا می‌شود که می‌توان با افزودن اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها به جیره غذایی آبزیان، فرآیند هضم غذا را بهبود بخشید (Eidelsburger,

1997). لازم به ذکر است که در بسیاری از مطالعات کاهش بسیاری از باکتری‌های گرم منفی در معده (Kluge *et al.*, 2004) و دوازدهه بر اثر حضور اسیدهای آلی به اثبات رسیده است و این در حالی است که باکتری‌های مفید و مقاوم نسبت به اسید مانند: لاکتوباسیل‌ها تحت تأثیر این اسیدهای آلی قرار نمی‌گیرند و در مواردی ممکن است تعدادشان نیز افزایش یابد (Hellweg *et al.*, 2006). بر اساس مطالعات Nuez-ortih و همکاران (۲۰۱۱) مشخص گردید که تغذیه میگوی مونودون (*Penaeus monodon*) با جیره غذایی حاوی ۱٪ بوتیرات سدیم منجر به افزایش ۹٪ نرخ رشد و ۳٪ بقاء شد. هم‌چنین، Dasilva و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه‌ای روی اثر رژیم غذایی حاوی بوتیرات سدیم و پروپیونات سدیم بر فاکتورهای رشد، کارایی غذا و فلور باکتریایی روده در میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) نشان دادند که در تمام تیمارهای تغذیه شده با ارگانیک اسیدها میزان رشد، فلور باکتریایی روده بهبود پیدا کرده و تعداد باکترهای ویبریو نیز در روده میگوهای تحت تیمار کاهش پیدا کرد.

بر اساس نتایج به‌دست آمده از بررسی حاضر مشخص گردید که افزودن اسید بوتیریک به جیره غذایی بچه ماهیان کلمه خزری مقاومت این گونه را در مواجهه با غلظت شوری کشنده (۱۸ میلی گرم درلیتر) افزایش نداد و مشاهده گردید ماهیانی که در جیره غذایی آن‌ها از اسید بوتیریک به عنولن افزودنی خوراکی استفاده گردید، دارای مقاومت کم‌تر در مواجهه با استرس شوری بوده که در نتیجه سبب افزایش تلفات تیمارها نسبت به گروه شاهد شد که بر اساس شواهد عینی می‌توان این امر را به تغذیه کم‌تر که منجر به افزایش ضعف بدنی بچه ماهیان شد، نسبت داد. به عبارت دیگر، نمی-توان چنین استنباط کرد که تنها افزودن اسید آلی در غذا باعث کاهش ایمنی این ماهی شده باشد؛ اما دور از انتظار نیست که با توجه به اسیدی‌تر شدن غذا در نتیجه افزودن اسید بوتیریک، تمایل ماهیان نسبت به غذاگیری کم‌تر شد که این امر ممکن است سبب کاهش ذخیره انرژی ماهیان شده باشد و در شرایط استرسی موجود قادر به تامین انرژی مورد نیاز جهت حفظ کامل هموستازی بدن نمی‌باشد. این موضوع تا حدی در بررسی مقادیر کورتیزول و گلوکز در شرایط پس از مواجهه به‌طور بارزی مشهود است. در این بررسی سطح کورتیزول بعد از تنش شوری در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌دار بالاتر ثبت شد که این میزان با گذشت زمان‌های پس از تنش نسبت به گروه شاهد دارای روند کاهشی کندتری بود اما بر اساس نتایج به‌دست آمده از بررسی میزان گلوکوز سرم خون، وضعیت گلوکز با این روند هم‌خوانی کامل نداشت و میزان گلوکز قبل از مواجهه شوری در ماهیان شاهد در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با اسید بوتیریک بالاتر بود ولی بلافاصله پس از تنش بر خلاف کمتر بودن سطح کورتیزول، بسیار بیشتر افزایش یافت و در زمان‌های بعدی با سرعت بیش‌تری به سطح قبلی برگشت. احتمال می‌رود که این روند در بالاتر بودن سطح مقاومت ماهیان گروه تیمار تاثیر گذار باشد زیرا در استرس شوری سطح گلوکز سرم خون آن‌ها کم‌تر افزایش یافت با توجه به این‌که سطح کورتیزول بالاتری داشتند.

.به‌طور کلی بر اساس نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌توان چنین اظهار داشت که افزایش اسید آلی بوتیریک به عنوان افزودنی خوراکی به جیزه غذایی ماهی کلمه خزری سبب ایجاد اثرات منفی روی رشد و مقاومت بچه ماهیان شده که البته با توجه به تفاوت در نوع گونه‌های آزمایشی و هم‌چنین اسیدآلی مورد استفاده، نتایج حاصل از این تحقیق را نمی‌توان روی سایر گونه‌ها القا کرد. لذا؛ برای کسب اطلاعات بیش‌تر در این زمینه انجام تحقیقات بیشتر امری است که ضروری به نظر می‌رسد. با این‌حال با توجه به این‌که بر اساس مطالعات محققان مشخص گردید که جذب بوتیرات در بخش‌های فوقانی دستگاه گوارش بسیار سریع می‌باشد که همین امر سبب کاهش کاربرد آن به‌عنوان یک افزودنی در جیره غذایی گردیده اما می‌توان استفاده از این اسیدآلی را با توجه به خواص آن به صورت کپسوله در جیره غذایی آبزیان، مورد بررسی قرار داد.

منابع

اکرمی، ر.، حاجی‌مرادلو، ع.، عابدیان کناری، ع. و علی-محمدی، ا.، ۱۳۸۷. اثرات سطوح متفاوت پروبیوتیک اینولین جیره غذایی بر شاخص‌های رشد، تغذیه، نرخ بازماندگی و ترکیب بدن فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی . مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دوره ۱۵، شماره ۵، صص ۵۵-۶۷.

بیابانی، م.، سوداگر، م.، مازندرانی، م. و یوسفی، س.، ۱۳۹۶. اثر پودر اسپیرولینا بر رشد، بازماندگی، کاروتنوئید کل ماهیان پیش مولدو پرورش در مرحله لاروی ماهی گورامی کوتوله (*Trichogaster lalius*). فصلنامه علوم و فنون شیلات، دوره ۶، شماره ۱، صص ۲۱-۳۵.

جافرنوده، ع.، نوکمه‌چی، ا.، حسین نجدگرامی، ا.، حاجی‌مرادلو، ع و نوری، ف.، ۱۳۹۵. بررسی اثرات سینرژیستی اسیدآلی پتاسیم سوربات و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی (*Lactobacillus casei*) بر شاخص-های رشد و خونی، ترکیب لاشه و فلور میکروبی روده در بچه ماهی قزل آلای رنگین‌کمان *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). نشریه پژوهش‌های ماهی-شناسی کاربردی، دوره چهارم، شماره اول، صص ۵۹-۷۴.

حاجی‌بگلو، ع.، ۱۳۸۹. تاثیر پریبیوتیک پریمالاک و پریبیوتیک ایموونول بر رشد، میزان زنده‌زایی و نسبت جنسی ماهیان دم‌شمشیری (*Xiphophorus helleri*) و پلاتی (*Xiphophorus maculatus*). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۷۶ ص.

حسینی‌فر، س.ح. و ظهیری، ف.، ۱۳۹۴. اثرات مکمل‌های غذایی میکروبی بر تکثیر ماهیان زینتی. آبزیان زینتی، دوره ۲، شماره ۲، صص ۳۹-۴۳.

حسینی، س.م.، حسینی، س.ع. و سوداگر، م.، ۱۳۹۵. اثر سطوح مختلف متیونین و تورین جیره بر خصوصیات بیوشیمیایی سرم خون تاسماهی ایرانی *Acipenser persicus*, Borodin 1897) تغذیه شده با جیره غذایی حاوی سطوح بالای پروتئین گیاهی. محیط زیست جانوری، دوره ۸، شماره ۱، صص ۱۲۹-۱۳۶.

حقی‌پور، م.، سوداگر، م.، مازندرانی، م. و حسینی‌فر، س.ح.، ۱۳۹۴. تاثیر سطوح مختلف پریبیوتیک ایزومالتوالیگوساکارید بر شاخص های رشد، بقاء و مقاومت در برابر تنش شوری در بچه ماهی کپورمعمولی (*Cyprinus carpio*). محیط زیست جانوری، دوره ۳، شماره ۷، صص ۲۳۵-۲۴۰.

خادمی، ف.، سجادی، م.، سوری‌نژاد، ا. و طاری کندر، ا.، ۱۳۹۲. بررسی قابلیت پروبیوتیک پروتکسین در بهبود مقاومت ماهی صبیتی (*Sparidentex hasta* Valenciennes, 1830) در برابر استرس‌های دما و شوری. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، دوره اول، شماره ۴، صص ۲۵-۳۸.

ذکریائی، ح.، سوداگر، م.، مازندرانی، م. و حسینی، س.ع.، ۱۳۹۵. تأثیر رنگدانه آستاگزانتین بر شاخص های رشد، رسیدگی جنسی و بقاء لاروهای ماهی فایتر(*Betta splendens*). فصلنامه محیط زیست جانوری، دوره ۷، شماره ۳، صص ۲۲۷-۲۳۴.

سالنامه آماری شیلات ایران.، ۱۳۹۴. سازمان شیلات ایران، معاونت برنامه‌ریزی و توسعه مدیریت، دفتر برنامه و بودجه. چاپ اول، ۶۳ ص.

سوداگر، م. و ذکریائی، ح.، ۱۳۹۴. استفاده از آنتی‌ا-کسیدان‌های طبیعی و مصنوعی در آبزی‌پروری. آبزیان زینتی، سال دوم، شماره ۴، صص ۱۷-۳۲.

سوداگر، م.، جعفری شموشکی، و.، حسینی، س. ع..، گرگین، س. و عقیلی، ک.، ۱۳۸۶. اثر اسیدآمینه‌های آسپارتیک و آلانین به‌عنوان ماده جاذب غذایی بر شاخص‌های رشد و بقاء بچه فیل ماهیان (*Huso huso* Linnaeus 1758). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد پانزدهم، شماره اول، ۱۱ ص.

سوداگر، م.، ذکریائی، ح.، دادگر، ش. و نهاوندی، ر.، ۱۳۹۵. تاثیر پروبیوتیک پریمالاک در جیره بر میزان زنده زایی و بازماندگی ماهی مولی سیاه (*Poecilia sphenops*). مجله محیط زیست جانوری، دوره ۹، شماره ۱، صص ۲۴۷-۲۵۲.

فرخی، ف.، جمیلی، ش.، شهیدی، م.، ماشینچیان، ع. و وثوقی، غ.ح.، ۱۳۹۴. بررسی تاثیر حشره‌کش مالاتیون بر بافت و آنزیم‌های کبدی ماهی کلمه دریای خزر *Rutilus rutilus caspicus*. مجله علمی شیلات ایران، دوره ۲۴، شماره ۴ ، صص ۱۱۷-۱۲۶.

محمدی، ح.، آق، ن.، توکمه چی، ا. و نوری، ف.، ۱۳۹۰. بررسی اثرهای پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس (*Lactobacillus rhamnosus*) و سیاه دانه (*Nigella sativa*) بر شاخص‌های رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، مجله زیست‌شناسی کاربردی، شماره ۲، صص ۵۰-۶۱.

مورکی، ن.، دادگر، ش. و نادری، م.ص.، ۱۳۹۳. اثر گیاه جعفری (*Petroselinum sativum*) بر شاخص رشد و بقاء

ماهی کوی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبزی-پروری، سال هشتم، شماره ۲، صص ۶۳-۹۳.

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, No. 38, pp: 109–120.

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, No. 38, pp: 238–249.

Buttle, L.G., Crampton, V.O. and Williams, P.D., 2001. The effect of feed pigment type on flesh pigment deposition and colour in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquaculture Research, Vol. 32, No. 2, pp: 103-111.

Christiansen, R. and Luckstadt, C., 2008. Effects of different dosages of potassium diformate in fishmeal on the performance of Atlantic salmon (*Salmo salar*), Abstract CD-Rom, World Aquaculture Society, 19–23 May, Busan, Korea.

Da Silva, B. ., 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, pp: 384–387, 104–110.

Eidelsburger, U., 1997. Optimierung der Futterqualitatist nurein Teilaspekt. Schweinewelt, January, 18–21.

Guilloteau, P., Martin, L., Eeckhaut, V., Ducatelle, R., Zabielski, R. and Van Immerseel, F., 2010. From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate. Nutrition research reviews,Vol. 23, No. 2, pp: 366-384.

Hamer, H. ., Jonkers, D., Venema, K., Vanhoutvin, S., Troost, F.J. and Brummer, R., 2008. Review article: the role of butyrate on colonic function, Alimentary Pharmacology Therapy, No. 27, pp: 104–119.

Hellweg, P., Tats, D., Manner, K., Vahjen, W. and Zentek, J., 2006. Impact of potassium diformate on the gut flora of weaned piglets, Proceedings of the Society of Nutrition Physiology, pp: 15-63.

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, No. 73, pp: 1309–1317.

Kiabi, B.H., Abdoli, A. and Naderi, M., 1999. Status of the fish fauna in the South Caspian basin of Iran. Journal of Zoology in the Middle East. No. 18, pp: 57-65.

Kluge, H., Broz, J. and Eder, K., 2004. Studies on the effect of benzoic acid as a feed additive on performance parameters,Improve this translation, On balance, microflora and parameters of microbial metabolism in the digestive tract of weaned piglets, 8th session for pigs and Geflugelernahrung, pp: 5-42.

Langhout, T., 2000. New additive for broiler chicken, World Poultry, No. 16, pp: 22-27.

Luckstadt, C., 2008a. The use of acidifiers in fish nutrition. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, No. 3, pp: 1–8.

Luckstadt, C., 2008b. Effect of dietary potassium diformate on the growth and digestibility of Atlantic salmon (*Salmo salar*), abstract from 13th International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, Florianopolis, Brazil, 179 p.

Morken, T., Kraugerud, O.F., Barrows, F.T., Sorensen, M., Storebakken, T. and overland, M., 2010. Effect of sodium diformate and extruder temperature on nutrient digestibility in rainbow trout fed barley protein concentrate-based diets, Abstract from the 14th International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, May 31–June4, Qingdao, China, O-064.

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, No. 40, pp: 1490–1500.

Nuez-Ortin, W.G., 2011. Gustor-aqua: an effective solution to optimize health status and nutrient utilization, International Aquafeed, July–August, pp: 18–20.

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, May 28–June 1, Biarritz, France.

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, No. 435, pp: 228-236.

Sarker, M.S.A., Satoh, S. and Kiron, V., 2007. Inclusion of citric acid and/or acid-chelated trace elements in alternate plant protein source diets a،ects growth and excretion ofnitrogen and phosphorus in red sea bream (*Pagrus major*), Aquaculture, No. 262, pp: 436-443.

Turchini, G. M., Mentasti, T., Froyland, L., Orban, E., Caprino, F., Moretti, V. M. and Valfre, F., 2003. Effects of alternative dietary lipid sources on performance, tissue chemical composition, mitochondrial fatty acid oxidation capabilities and sensory characteristics in brown trout. Aquaculture, No. 225, pp: 251-267.

Vazquez, J.A., Gonzalez, M.P. and Murado, M.A., 2005. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish, Aquaculture, No. 245, pp: 149–61.

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, No. 40, pp: 1490-1500.