

## اثرات اسید پروپیونیک خوراکی بر شاخص‌های رشد و مقاومت در برابر استرس شوری

در کلمه خزری (*Rutilus caspicus*)

محمد مازندرانی<sup>\*</sup><sup>۱</sup>، محمد سوداگر<sup>۱</sup>، ولی الله جعفری<sup>۱</sup>، فرهاد بزی<sup>۱</sup>، علی نقی سرپناه<sup>۲</sup>

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

صندوق پستی: ۴۹۱۸۹۴۳۴۶۴

۲ - سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

\*mazandarani@gau.ac.ir

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۵      تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۶

### چکیده

در بررسی حاضر اثرات اسید پروپیونیک خوراکی در جیره غذایی کلمه خزری (*Rutilus caspicus*) بر شاخص‌های رشد و کنترل شاخص‌های استرس در مواجهه با تنفس شوری مورد بررسی قرار گرفته است. به این منظور ۳ گروه تیمار و یک گروه کنترل در نظر گرفته شد. لذا تعداد ۱۸۰ ماهی با میانگین وزنی  $178 \pm 10$  گرم در ۲۱ مخزن با ابعاد  $1/5 \times 1/5 \times 1/5$  متر و حجم آبگیری ۶۰ لیتر (۱۵ قطعه در هر مخزن) تقسیم شده و مورد پرورش قرار گرفتند. بچه ماهیان در ۵ گروه با سطوح مختلف صفر (گروه کنترل)،  $1/5$ ،  $1$  و  $2$  درصد اسید پروپیونیک با سه تکرار به مدت دو ماه با جیره آزمایشی تغذیه شدند. پس از ۶۰ روز تغذیه با جیره غذایی آزمایشی، بچه ماهیان به مدت ۱۲ ساعت در مواجهه با تنفس شوری غیر کشنده با میزان  $10 \text{ ppt}$  قرار گرفتند. سپس جهت سنجش میزان گلوكوز و کورتیزول به عنوان شاخص استرس عملیات خون‌گیری در ۶ بازه زمان شامل: قبل از تنفس شوری، بلا فاصله پس از تنفس شوری،  $12$ ،  $24$ ،  $48$  و  $72$  ساعت پس از تنفس شوری انجام شد. بر اساس نتایج در تمامی گروه‌های تیمار تغذیه شده با سطوح متفاوت اسید پروپیونیک میانگین وزن شاخص‌های رشد از جمله وزن نهایی، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن در مقایسه با ماهیان گروه شاهد به طور معنی‌دار پایین‌تر محاسبه گردید ( $p < 0.05$ ). در عین حال هورمون کورتیزول به عنوان شاخص استرس در ماهیان تغذیه شده با اسید پروپیونیک بالاتر از ماهیان گروه شاهد ثبت گردید ( $p < 0.05$ ).

**کلمات کلیدی:** اسید پروپیونیک، شاخص‌های رشد، بازنده‌گی، استرس شوری

**مقدمة**

پرورشی به حساب نمی‌آید به همین دلیل در رابطه با جیره دستی سازگار با این ماهی مطالعات بسیار اندکی صورت گرفته است. در صورتی که تکثیر و پرورش ماهی کلمه به منظور حفظ و بازسازی ذخائر این گونه، جهت تغذیه توسط ماهیان خاویاری، امری است که ضروری به نظر می‌آید. در این راستا، با توجه کاهش شدید جمعیت ماهی کلمه خزری و ضرورت بازسازی این گونه در دریا از طریق تکثیر و پرورش و رهاسازی آن و همچنین با در نظر گرفتن سابقه تحقیق اسیدهای آلی در افزایش مقاومت آبزیان، هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثرات آسید پروپیونیک خوارکی در جیره غذایی بچه ماهیان کلمه خزری بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و مقاومت در برابر استرس شوری بوده است.

**مواد و روش‌ها**

**تهیه ماهیان و شرایط آزمایش:** این آزمایش در سالن آبزی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی دانشکده شیلات در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. برای انجام این نحقیق، ابتدا تعداد ۵۰۰ قطعه بچه ماهی کلمه خزری با میانگین وزنی  $10 \pm 1/78$  گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیچوال تهیه و درون مخزنی با ابعاد  $1/5 \times 1/5$  متر نگهداری گردید. سپس بچه ماهیان جهت سازگاری با محیط آزمایش، به مدت دو هفته در داخل این مخزن‌ها (ونیرو با جنس فایبرگلاس) مورد پرورش قرار گرفتند و طی این مدت به میزان  $3\%$  وزن بدن با غذای تجاری (انرژی، ساخت شرکت ماهیران) تغذیه شدند.

**مراحل انجام آزمایش:** بچه ماهیان کلمه خزری پس از گذراندن مراحل سازگاری، به ۲۱ مخزن  $60$  لیتری منتقل شدند ( $15$  قطعه ماهی در هر مخزن)؛ سپس، به منظور بررسی اثرات تغذیه‌ای اسید پروپیونیک در جیره غذایی، سه گروه تیمار با میزان  $0/5$ ،  $1$  و  $2\%$  اسید پروپیونیک به ازای کیلوگرم جیره‌ی غذایی، یک گروه شاهد (با جیره پایه) با سه تکرار در نظر گرفته شد. غذاهی روزانه به میزان  $3$  درصد وزن بدن به مدت  $2$  ماه صورت گرفت. برای تعیین شاخص‌های رشد بچه ماهیان، هر دو هفته یکبار زیست‌سنجدی انجام شد. به علاوه، در پایان دوره شاخص‌های رشد بررسی و تغییرات رشد در طی این دوره طبق فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Turchini *et al.*, 2013):

در سال‌های اخیر، استفاده از عوامل ضد باکتریایی غیرشیمیایی و عواملی که سبب تحریک و افزایش مقاومت سیستم ایمنی در آبزیان می‌گردد مورد توجه بوده است. لذا، اثرات برخی از این ترکیبات مانند عصاره‌های گیاهی، ویتامین-های، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی و غیره مورد بررسی‌های متعدد قرار گرفته است. اسیدهای آلی به ترکیباتی اطلاق می‌گردد که شامل زنجیره‌های هیدروکربنی بلند و یا کوتاه زنجیره باشد که خاصیت ضدبакتریایی، ایمنی‌زایی و اثرات افزایش رشد آن‌ها در برخی مطالعات گزارش گردیده است (Romano *et al.*, 2015). که از آن جمله می‌توان به اسید پروپیونیک، اسید بوتریک، اسید لاکتیک، اسید فومیک و اسید مالیک به عنوان نمونه‌هایی از اسیدهای آلی اشاره نمود (Luckstadt, 2008a).

اسید پروپیونیک یکی از اسیدهای آلی بسیار معروف است که جزو اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه جیره کوتاه فار (C1-C7) و اسیدهای کربوکسیلیک ضعیف می‌باشد در ساختار این اسید بیش از چند گروه کربوکسیل وجود دارد (Wing-Keong *et al.*, 2009) و اثرات مهارکنندگی بر رشد کپک‌ها و قارچ‌ها، همچنین اثرات مهارکنندگی آن برای باکتری‌ها نیز به اثبات رسیده است در برخی گزارشات اثراتی همچون کاهش بار باکتری‌های پاتوژن در روده ماهیان تغذیه شده این اسید آلی گزارش شده است (Langhout, 2000). در عین حال در این گزارش شده است (Malicki *et al.*, 2004) اثر رژیم غذایی حاوی بوتیرات سدیم و پروپیونات سدیم بر بهبود فاکتورهای رشد، کارایی غذا و فلور باکتریایی Da (Litopenaeus vannamei) (silva *et al.*, 2013) و نیز اثر عناصر غذایی بر فعالیت ضدقارچ اسید پروپیونیک در محیط آزمایشگاهی اشاره کرد (Dixon and Hamilton, 1981).

ماهی کلمه خزری *Rutilus caspicus* یکی از گونه‌های با ارزش شیلاتی دریایی خزر و رودخانه‌های منتهی به آن بوده که ذخایر آن طی سال‌های اخیر به دلایل مختلفی از جمله: آلدگی آبهای، به شدت کاهش یافته است؛ به طوری که این ماهی جزء گونه‌های در معرض تهدید منطقه محسوب می‌گردد (Kiabi *et al.*, 1999). به علاوه این ماهی، گونه‌ای بوری هالین و یوری ترم بوده و بیشترین پراکنش آن، در کرانه‌های شمالی دریایی خزر می‌باشد. علی‌رغم ارزش اقتصادی بسیار بالای ماهی کلمه، این گونه در عمل جزو ماهیان

از هر تیمار به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از سرنگ ۲ سی سی آگوسته به هپارین از ساقه دمی خون گیری شد و پس از انتقال نمونه های خون به تیوب های ۱/۵ سی سی توسط سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰) پلاسمای خون از بقیه اجزای خون جدا و توسط سمپلر به تیوب هایی که مشخصات مربوط به هر گروه توسط بر چسب روی آن نصب شده بود، منتقل گردید. دمای تعریف شده برای انجام این آزمایش، ۲۰-۲۶ سانتی گراد ثبت گردید.

**اندازه گیری شاخص های بیوشیمیایی خون:** شاخص های بیوشیمیایی اندازه گیری شده در این آزمایش شامل: کورتیزول و گلوکز بود. که گلوکز با استفاده از کیت تجاری پارس آرمون و با دستگاه اسپکترو فوتومتری (Biochrom, libra S12) (Biochrom, libra S12) و براساس دستور العمل داخل کیت ها اندازه گیری شد. همچنان، کورتیزول نیز با استفاده از کیت تجاری IBL و با دستگاه الایزا (Model 2100 UNISCO) اندازه گیری گردید.

**مقاومت و زنده مانی بچه ماهیان** کلمه خزری در مواجهه با تنفس شوری کشنده: به منظور بررسی میزان مقاومت و زنده مانی بچه ماهیان تعداد ۱۲ قطعه ماهی از هر تیمار با شوری ۱۸ گرم در لیتر مورد مواجهه قرار گرفت و زنده مانی ماهیان به مدت ۷۲ ساعت ثبت گردید (ثبت تلفات هر ۱۲ ساعت یکبار انجام شد).

**وضعیت فیزیکوشیمیایی آب پرورش:** جهت هوادهی محیط پرورشی، در هر یک از مخازن هوادهی ملایمی از طریق سنگ هوای متصل به کمپرسور مرکزی صورت می گرفت. برای جلوگیری از آلودگی محیط پرورش، ضایعات غذایی و مدفعه، سیفون مخازن یکبار در روز انجام می شد. فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل: دما، pH، اکسیژن محلول و شوری آب به صورت روزانه اندازه گیری و به ترتیب  $^{\circ}\text{C}$ ،  $\text{pH}$ ،  $\text{ppt}$ ،  $\text{O}_2/\text{l}$ ،  $\text{NH}_3-\text{N}/\text{l}$  (میلی گرم در لیتر)،  $\text{ppt}/\text{l}$  ثبت گردید. آب مورد استفاده برای پرورش آب شهری بوده که جهت کلرزدایی به مدت ۲۴ ساعت درون مخازن ذخیره هوادهی شد.

**تجزیه و تحلیل آماری:** تجزیه و تحلیل داده ها به روش آنالیز واریانس یک طرفه ۵ انجام شد. جهت مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن استفاده گردید و اختلاف بین میانگین ها در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان ۹۵٪ تعیین شد. برای عملیات آماری از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۲ استفاده شد. تمامی داده ها براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شدند.

محاسبه شاخص های رشد:

۱) افزایش وزن بدن ( $\text{WG}^1$ ):

$$\text{BWI} = \text{Wt}_2 - \text{Wt}_1$$

گرم وزن اولیه ماهی =  $\text{Wt}_1$ ، گرم وزن نهایی ماهی =  $\text{Wt}_2$

۲) درصد افزایش وزن بدن ( $\text{WGP}^2$ ):

$$\text{WGP} = (\text{Wt}_2 - \text{Wt}_1) / \text{Wt}_1 \times 100$$

گرم وزن اولیه ماهی =  $\text{Wt}_1$ ، گرم وزن نهایی ماهی =  $\text{Wt}_2$

۳) نرخ رشد ویژه ( $\text{SGR}^3$ ):

$$\text{SGR} (\%) / \text{day} = [( \ln \text{Wt}_2 - \ln \text{Wt}_1 ) / t_2 - t_1] \times 100$$

لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی =  $\ln \text{Wt}_1$ ، لگاریتم طبیعی

نهایی ماهی =  $\ln \text{Wt}_2$ . طول دوره آزمایش =  $t_2 - t_1$

محاسبه شاخص های تغذیه ای (CF<sup>4</sup>):

۴) فاکتور وضعیت (Condition Factor =  $\text{Wt}_2 / (\text{FL})^3$ )

$$\text{Condition Factor} = \text{Wt}_2 / (\text{FL})^3$$

وزن نهایی ماهیان (گرم) =  $\text{Wt}_2$ ، طول نهایی ماهیان (سانتی متر) =  $\text{FL}$

۵) درصد زنده مانی (Survival rate):

$$\text{Survival rate} = (\text{N}_t - \text{N}_0) \times 100$$

تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش =  $\text{N}_t$ ، تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش =  $\text{N}_0$

تنفس شوری غیر کشند و فرآیند خون گیری: پس از گذشت ۶۰ روز از شروع آزمایش، بچه ماهیان جهت بررسی اثرات تغذیه ای اسید پروپیونیک روی شاخص های استرسی در مواجهه با شوری غیر کشند، به مدت ۱۲ ساعت تحت تنفس شوری ۱۰ ppt قرار داده شدند و پس از آن مجدداً به حالت اول برگردانیده شدند. همچنان، برای انجام بررسی های سروولوزی، طی ۶ دوره زمانی خون گیری صورت گرفت که این تقسیم بندی زمانی شامل: قبل از تنفس شوری (خون گیری اول)، بلا فاصله پس از تنفس شوری (خون گیری دوم)، ۱۲ ساعت پس از تنفس شوری (خون گیری سوم)، ۲۴ ساعت پس از تنفس شوری (خون گیری چهارم)، ۴۸ ساعت پس از تنفس شوری (خون گیری پنجم) و ۷۲ ساعت پس از تنفس شوری (خون گیری ششم) می شد. خون گیری بدین صورت انجام گردید که در هر کدام از دوره های مذکور، تعداد ۷ قطعه ماهی

<sup>1</sup> Weight gain

<sup>2</sup> Weight growth percent

<sup>3</sup> Specific growth rate

<sup>4</sup> Feed conversion ratio

## نتایج

وزن انتهای دوره، افزایش وزن بدن، ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن بدن در تمامی گروه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف اسید پروپیونیک در مقایسه با ماهیان گروه شاهد به طور معنی‌دار پایین‌تر بود ( $p < 0.05$ ). در عین حال، هیچ اختلاف معنی‌داری برای شاخص‌های رشد در ماهیانی که با سطوح مختلف اسید پروپیونیک تغذیه شدند ثبت نگردید ( $p > 0.05$ ).

اثرات سطوح مختلف اسید پروپیونیک بر شاخص‌های رشد و بازماندگی: طبق نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و درصد بازماندگی بچه ماهیان کلمه خزری تغذیه شده با سطوح متفاوت اسید پروپیونیک مشخص شد که در طی ۶۰ روز پرورش هیچ تلفاتی در گروه‌های مختلف مورد بررسی رخ نداد. بر اساس نتایج تغذیه با سطوح مختلف اسید پروپیونیک در تمامی گروه‌های تیمار منجر به اثرات منفی بر شاخص‌های رشد در بچه ماهیان کلمه خزری گردید. میانگین

جدول ۱: مقایسه برخی شاخص‌های رشد بچه ماهی کلمه خزری تغذیه شده با سطوح مختلف اسید پروپیونیک

گروه شاهد	٪/۰۵ اسید پروپیونیک	٪/۰۲ اسید پروپیونیک	شاخص‌های رشد
$10/97 \pm 1/26^a$	$10/52 \pm 2/85^a$	$11/04 \pm 1/28^a$	میانگین وزن ابتدای دوره (گرم)
$13/65 \pm 1/20^a$	$13/11 \pm 1/85^b$	$12/50 \pm 1/36^b$	میانگین وزن انتهای دوره (گرم)
$10/91 \pm 0/63^b$	$11/14 \pm 0/45^a$	$10/90 \pm 0/35^b$	میانگین طول انتهای دوره (سانتیمتر)
$2/68 \pm 0/17^b$	$2/59 \pm 0/18^b$	$1/47 \pm 0/10^b$	افزايش وزن بدن (گرم)
$24/41 \pm 1/43^b$	$24/64 \pm 7/83^b$	$13/30 \pm 1/02^b$	درصد افزایش وزن بدن
$0/16 \pm 0/01^b$	$0/16 \pm 0/05^b$	$0/09 \pm 0/01^b$	نرخ رشد ویژه (درصد در روز)
$1/05 \pm 0/03^a$	$0/95 \pm 0/02^b$	$0/97 \pm 0/02^b$	شاخص وضعیت
$100^a$	$100^a$	$100^a$	نرخ بقا (درصد)

حروف انگلیسی در هر ردیف، نشانه تفاوت معنادار در سطح  $0.05$  است. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار است

غیر کشنده: بر اساس وضعیت مقادیر کورتیزول طی دوره‌های زمانی مختلف پس از مواجهه با شوری غیر کشنده در بچه ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف اسید پروپیونیک مشخص گردید که مقادیر کورتیزول در تمامی گروه‌ها بلافضله پس از تنفس شوری به شدت افزایش یافت در تمامی گروه‌های مورد بررسی سطح کورتیزول تا ۷۲ ساعت پس از تنفس هنوز بالاتر از زمان قبل از تنفس شوری بود ( $p < 0.05$ ) (پ). اما، تا ۴۸ ساعت پس از تنفس همچنان مقادیر کورتیزول در ماهیان گروه شاهد نسبت به سایر گروه‌های تیمار کمتر بود ( $p < 0.05$ ) (پ).

زنده‌مانی ماهیان تغذیه شده با اسید پروپیونیک در مواجهه با تنفس شوری کشنده: وضعیت تلفاتی ماهیان گروه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف اسید پروپیونیک در مواجهه با شوری کشنده ۱۸ گرم در لیتر نشان داد که اولین تلفات ۲۴ ساعت پس از مواجهه در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف اسید پروپیونیک ثبت گردید. در ماهیان گروه شاهد در طی ۴۸ ساعت اول پس از مواجهه هیچ تلفاتی ثبت نگردید و در نهایت پس از ۶۰ ساعت ۴۰ درصد از ماهیان گروه شاهد تلف شدند، اما این میزان تلفات در ماهیان گروه‌های مختلف تیمار بین ۷۰ تا ۱۰۰ درصد ثبت شد.

## بررسی مقادیر کورتیزول و گلوکز پس از تنفس شوری

جدول ۲: تغییرات کورتیزول خون بچه ماهیان کلمه خزری تغذیه شده با سطوح مختلف اسید پروپیونیک تحت تنفس شوری  $10\text{ ppt}$ 

کورتیزول	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
قبل از تنفس	$167/21 \pm 22/15^a E$	$168/31 \pm 33/42^a E$	$183/34 \pm 36/41^a D$	$154/48 \pm 34/28^a E$
بلالاصله بعد از تنفس	$645/11 \pm 43/38^b A$	$791/42 \pm 32/47^a A$	$780/28 \pm 42/19^a A$	$822/19 \pm 38/62^a A$
۱۲ ساعت بعد از تنفس	$541/13 \pm 33/14^b B$	$722/86 \pm 42/29^a A$	$668/82 \pm 62/81^a A$	$740/43 \pm 28/14^a B$
۲۴ ساعت بعد از تنفس	$346/42 \pm 22/8^c C$	$560/48 \pm 46/19^a B$	$480/44 \pm 25/88^b B$	$550/38 \pm 39/92^a C$
۴۸ ساعت بعد از تنفس	$280/14 \pm 26/8^b D$	$404/42 \pm 48/68^a C$	$388/22 \pm 41/54^a C$	$299/84 \pm 31/42^b D$
۷۲ ساعت بعد از تنفس	$289/45 \pm 34/88^b D$	$310/66 \pm 43/44^b D$	$402/33 \pm 35/8^a C$	$334/56 \pm 42/58^a b D$

حروف انگلیسی بزرگ غیر مشابه در هر ردیف و حروف انگلیسی کوچک غیر مشابه در هر ستون و حروف انگلیسی کوچک در هر ردیف، بیانگر اختلاف معنادار در سطح  $0.05$  است. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار است.

بود ( $p < 0.05$ ). در این بررسی سطح گلوکز در تمامی گروه‌های مورد آزمایش در طی ۷۲ ساعت پس از تنفس به طور نسبتاً یکنواخت نسبت به زمان بلاfacسله پس از تنفس کاهش یافت ( $p < 0.05$ ), که این میزان در ماهیان گروه شاهد در زمان ۷۲ ساعت پس از تنفس نسبت به زمان قبل از تنفس پایین‌تر گزارش شد.

بر اساس نتایج حاصل از جدول ۲ مقادیر گلوکز در ماهیان گروه شاهد قبل از تنفس شوری در مقایسه با ماهیانی که با سطوح مختلف اسید پروپیونیک تغذیه شدند به طور معنی داری بالاتر بود. مقادیر گلوکز بلاfacسله پس از تنفس شوری در ماهیان گروه شاهد از سایر گروه‌های تیمار بالاتر ثبت شد. با این حال، در بررسی ۱۲ ساعت پس از تنفس شوری مقادیر گلوکز در تمامی گروه‌های مورد بررسی فقد اختلاف معنی دار

جدول ۳: تغییرات گلوکز خون بچه ماهیان کلمه خزری تحت تنفس شوری ppt

گلوکز	قبل از تنفس	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
		$128/44 \pm 14/23^a BC$	$92/41 \pm 15/32^b C$	$88/18 \pm 17/16^b D$	$96/85 \pm 19/25^{ab} D$
		$342/88 \pm 26/64^a A$	$330/81 \pm 11/68^a A$	$238/81 \pm 14/61^b A$	$263/20 \pm 14/28^b A$
		$147/62 \pm 11/62^a B$	$178/58 \pm 22/43^a B$	$173/87 \pm 28/11^a B$	$166/23 \pm 18/51^a B$
		$153/41 \pm 12/26^a B$	$177/39 \pm 19/44^a B$	$155/13 \pm 18/24^a B$	$164/81 \pm 16/33^a B$
		$148/43 \pm 16/16^a B$	$118/13 \pm 12/16^b C$	$124/75 \pm 12/67^{ab} C$	$132/84 \pm 14/82^a C$
		$98/84 \pm 15/62^a C$	$91/21 \pm 12/21^a C$	$107/88 \pm 16/58^a D$	$93/54 \pm 17/81^a D$

حروف انگلیسی بزرگ غیر مشابه در هر ردیف و حروف انگلیسی کوچک غیر مشابه در هر ستون و حروف انگلیسی کوچک در هر ردیف، بیانگر اختلاف معنادار در سطح  $0.05$  است. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف میانگین می‌باشند.

## بحث

امروزه آبزی پروری مطلوب وابسته به معیارهای مختلف بوده که در این میان انتخاب غذای مناسب با پتانسیل لازم از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد در سالهای اخیر، استفاده از مکمل‌ها و افزودنی‌های خوراکی در جیره غذایی آبزیان جهت بهبود فاکتورهای رشد و ایمنی بدن مرسوم گردیده است. اسیدهای آلی خوراکی نمونه‌ی بارزی از این افزودنی‌ها بوده که بهدلیل دارا بودن خواص ویژه بسیار مورد توجه می‌باشند. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از اسید پروپیونیک در جیره غذایی ماهی کلمه خزری به عنوان افزودنی خوراکی به میزان  $0.5\%$  تا  $2$  درصد، نه تنها عملکرد رشد را بهبود نبخشید، بلکه سبب بروز اثرات منفی بر شاخص‌های رشد گردید. به طوری که در برخی تیمارها حتی به میزان  $3$  برابر، قابلیت میزان وزن‌گیری ماهی کمتر از گروه شاهد بود، از آنجایی که ماهیان کلمه خزری تغذیه شده با جیره غذایی حاوی سطوح متفاوت اسید پروپیونیک نسبت به گروه شاهد تمایل کمتری در برابر غذاگیری داشتند، لذا این اثرات منفی در رشد ممکن است ناشی از عدم غذاگیری باشد که البته برای اثبات این موضوع به بررسی‌های بیشتری نیاز است. تحقیقات نشان داد که اثرات اسیدهای آلی و نمک‌های آن بر شاخص‌های رشد و افزایش مقاومت آبزیان در برابر پاتوژن‌های آسیب‌رسان به گونه ماهی، نوع و میزان اسید آلی

و یا نمک آن بستگی دارد ( Ng et al., 2011; Luckstadt, 2008a; Wing-Keong et al., 2009; Romano et al., 2015) از این‌رو می‌توان عدم تطابق نتایج حاصل از این تحقیق را با نتایج حاصل از اثرات سایر اسیدهای آلی بر شاخص‌های رشد گونه‌های متفاوت را توجیه نمود. در این راستا می‌توان به اثرات تغذیه‌ای اسیدهای آلی و نمک‌های آن در ماهیان گونه‌های چار قطبی (*Salvelinus alpinus*) (Ringo, 1991)، سالمون آتلانتیک (*Salmo salar*) (Ringo et al., 1994; Luckstadt, 2008b) رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Pandey and ) (*Oreochromis niloticus*) (Satoh, 2008 Ng et al., Zhou et al., 2009) (♀ × ♂ *O. aureus*) (Ng et al., 2009) اشاره نمود که در تمامی مطالعات مذکور افزودن اسیدهای آلی به جیره غذایی سبب افزایش شاخص‌های رشد، قابلیت هضم و بهبود کیفیت پرده‌های روده گردیده است. به علاوه، مطالعات بسیاری در ارتباط با افزایش مقاومت و ایمنی در ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها در مواجهه با پاتوژن‌های بیماری‌زا انجام گردیده است. مکانیسم عمل این ترکیبات را می‌توان چنین بیان نمود که با افزایش میزان یون هیدروژن ( $H^+$ ), میزان pH روده و معده کاهش یافته و سبب مهار و جلوگیری از رشد باکتری‌های پاتوژن و بیماری‌زا می‌گردد. از

شاهد روند کاهشی کنترلی داشت اما وضعیت گلوکز سرم خون با این روند هم خوانی کامل نداشت به طوری که میزان گلوکز قبل از مواجهه شوری در ماهیان شاهد نسبت به ماهیان تغذیه شده با اسیدهای آلی بالاتر بود و بلا فاصله پس از تنفس نیز برخلاف کمتر بودن سطح کورتیزول بسیار بیشتر افزایش یافت و در زمان‌های بعدی سریعتر به سطح قبلی برگشت. شاید این روند در مقاومت ماهیان گروه تیمار تاثیر گذار باشد زیرا در استرس شوری سطح گلوکز آن‌ها با این‌که سطح کورتیزول بالاتری داشتند کمتر افزایش نشان داد.

به طور کلی نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که افزودن اسید پروپیونیک به جیره غذایی ماهی کلمه خزری دارای اثرات منفی روی رشد و بقاء بچه ماهیان بوده که البته این نتایج روی سایر گونه‌ها تعیین‌پذیر نمی‌باشد، زیرا اثرات اسیدهای آلی در جیره غذایی آبزیان به گونه آزمایشی و نوع اسید آلی مصرفی بستگی دارد. لذا برای کسب اطلاعات بیشتر در این زمینه مطالعات و انجام تحقیقات بیشتر امری است که ضروری به نظر می‌رسد.

## منابع

- 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*, 38, 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*, 38, 238–249.
- 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*, pp384–387:104–110.
- Dixon, R.C. and Hamilton, P.B., 1981.** Effect of feed ingredients on the antifungal activity of

سویی دیگر، با افزایش باکتری‌های اسید لاکتیک قابلیت هضم نیز افزایش می‌یابد. بر اساس نتایج حاصل از تحقیقات متعدد مشخص گردید که موجودات زنده در مراحل ابتدایی زندگی دارای جذب غذایی بالاتری می‌باشند؛ همچنین، زمانی که میزان پروتئین غذا بالا است، غلظت اسید هیدروکلریک در معده کاهش یافته که این کاهش بر میزان فعل سازی پیسین و ترشح آنزیم پانکراتیک اثر گذاشته و در هضم غذا مشکل ایجاد می‌کند. لذا با تأمین اسیدی آلی در جیره غذایی آبزیان، ممکن است عملیات هضم غذا بهتر و این مشکلات مرتفع گردد (Eidelsburger, 1997) که البته این امر به نوع گونه و نوع اسید آلی مصرفی وابسته می‌باشد تحقیقات Dasilva و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که با استفاده از رژیم غذایی حاوی سطوح متفاوت بوتیرات سدیم و پروپیونات سدیم در میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) میزان رشد و فلور باکتریالی روده بهبود یافته و تعداد باکترهای ویبریو نیز در روده میگوهای تحت تیمار کاهش پیدا کرد. همچنین، Wing-Keong و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند افزودن اسیدهای آلی در جیره غذایی هیبرید تیلاپیا قرمز (*Oreochromis sp*) باعث افزایش مقاومت گروههای تیمار *Streptococcus agalactiae* در برابر بیماری‌زایی باکتری گردید.

در بررسی حاضر افزودن اسید پروپیونیک به جیره غذایی بچه ماهیان کلمه خزری سبب افزایش مقاومت ماهیان کلمه خزری در مواجهه با غلظت شوری کشنده (۱۸ میلی‌گرم در لیتر) نگردید، و بر اساس نتایج حاصل ماهیانی که با جیره غذایی حاوی اسید پروپیونیک تغذیه شده بودند نه تنها در مواجهه با استرس شوری مقاوم نشدند، بلکه تلفات بالاتری نسبت به گروه شاهد داشتند. ممکن است این امر را بتوان به تغذیه کمتر و در نتیجه ضعف بدنی بیشتر بچه ماهیان نسبت داد؛ به عبارت دیگر بعيد به نظر می‌رسد که افزودن اسید آلی (اسید پروپیونیک) در جیره غذایی این ماهیان سبب کاهش ایمنی بدنی آن‌ها شده باشد اما به دلیل اسیدی تر شدن غذا، تمایل به غذاگیری در ماهیان مورد بررسی کاهش یافت که احتمال می‌رود چون ذخیره انرژی ماهیان کمتر بوده به همین دلیل قادر نبودند در شرایط استرسی انرژی مورد نیاز خود را جهت حفظ هموستازی بدن تامین نمایند. این موضوع تا حدی در بررسی مقادیر کورتیزول و گلوکز در شرایط پس از مواجهه قابل مشاهده است. چنان‌چه، سطح کورتیزول بعد از تنفس شوری در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌دار بالاتر ثبت شد و با گذشت زمان‌های پس از تنفس نسبت به گروه

- Propionic acid 1, 2. Poultry Science, 60(11), 2407-2411.
- Eidelsburger, U., 1997.** Optimierung der Futterqualität ist nur ein Teilaспект. Schweinewelt, January, pp: 18–21.
- 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, 73, 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, 18, 57-65.
- Luckstadt, C., 2008a.** The use of acidifiers in fish nutrition. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 3, 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.
- Langhout, T., 2000.** New additive for broiler chicken, World Poultry, 16, 22-27.
- Malicki, A., Zawadzki, W., Brzeziewicz, S., Graczyk, S. and Czerski, A., 2004.** Effect of formic and propionic acid mixture on *Escherichia coli* in fish meal stored at 12-C, Pakistan Journal of Nutrition, 3, 353–356.
- 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, 40, 1490–1500.
- 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.
- 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.
- Ringo, E., 1991.** Effects of dietary lactate and propionate on growth and digesta in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). Aquaculture, 96, 321–333.
- Ringo, E., Olsen, R.E. and Castell, J.D., 1994.** Effect of dietary lactate on growth and chemical composition of Arctic charr *Salvelinus alpinus*. Journal of World Aquaculture Society, 25, 483–486.
- 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, 435, 228-236.
- Turchini, G., 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, 225, 251-267.
- 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, 40, 1490-1500.

**Zhou, Z., Liu, Y., He, S., Shi, P., Gao, X., Yao, B. and Ringo, 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, 291, 89–94.