

بررسی تأثیر سطوح مختلف نمک پروپیونات سدیم جیره غذایی بر برخی شاخص‌های خون- شناسی 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: 49175-487
- **شبنم نژادمقدم:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: 49175-487
- **سیدحسین حسینی‌فر:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: 49175-487
- **علی جافرنوده:** گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: 49175-487

تاریخ دریافت: تیر 1395 تاریخ پذیرش: مهر 1395

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر سطوح مختلف نمک پروپیونات سدیم در جیره غذایی بر شاخص‌های خون‌شناسی (تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، هموگلوبین، همتوکریت، 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 $25/99 \pm 4/43$ به 4 گروه آزمایشی، یک گروه شاهد با جیره غذایی پایه، 3 گروه تیمار آزمایشی با جیره حاوی 0/5، 1 و 2 درصد نمک پروپیونات سدیم (با 3 تکرار) تقسیم شدند. نتایج نشان داد که استفاده از نمک پروپیونات سدیم در جیره غذایی در میزان هموگلوبین، همتوکریت و اندیس‌های خونی (MCHC و MCV) در برخی تیمارهای آزمایش روند افزایشی داشته است اما این اختلاف معنی‌دار نبود ($P>0/05$). در حالی‌که میزان MCH در تیمار 1٪، گلبول قرمز در تیمار 2٪ و تعداد گلبول سفید در تیمار 0/5 و 1٪ پروپیونات سدیم افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شاهد نشان داد ($P<0/05$). در بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهیان نتایج کاهش کلسترول خون را نشان داد اما این اختلاف معنی‌دار نبود ($P>0/05$). اختلاف معنی‌داری در میزان گلوکز بین تیمارها مشاهده شد ($P<0/05$). به‌طوری‌که کمترین مقدار گلوکز مربوط به تیمار 2٪ پروپیونات سدیم بود که با گروه شاهد از نظر آماری اختلاف نداشت ($P>0/05$). در گروه‌های دریافت‌کننده نمک میزان آلبومین و پروتئین کل تغییرات معنی‌داری نداشت ($P>0/05$). 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

مقدمه

اسیدهای آلی یکی از انواع محرک‌های طبیعی می‌باشند که در ساختارشان دارای یک یا بیش از چند گروه کربوکسیل است (Wing-Keong و همکاران، 2009). از بین این ترکیبات، آن‌هایی که بین 1 تا 7 کربن دارند، دارای اثرات ضد میکروبی هستند (Eidelsburger، 1998). اسیدهای آلی از طریق فرایند انتشار، جذب سلول‌های اپیتلیوم روده می‌شوند و انرژی این سلول‌ها را تأمین می‌کنند که در پی آن سلامت روده را به‌دنبال خواهد داشت (Morz و partanen، 1999). 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، 2013).

مطالعات نشان می‌دهد که اسیدهای آلی به‌عنوان ترکیبات مقرون به‌صرفه و با خاصیت بهبود عملکرد بدن و خواص

گسترش آبی‌پروری در طی 10 سال گذشته آزیان را به‌عنوان یک منبع پروتئینی حیوانی مهم در سراسر جهان تبدیل کرده است (Martínez و همکاران، 2016). 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 آزیان، افزایش هزینه‌های جاری تولید ماهی و آلودگی محیط زیست را به‌همراه دارد (Tangestani و همکاران، 2011). 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، 2016).



غیر اختصاصی بدن می‌باشند در جهت بهبود عملکرد سیستم ایمنی غیر اختصاصی ماهی کپور معمولی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در آزمایشگاه آبی پروری شهید فضل‌ی برآبادی 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 به مدت دو هفته جهت سازگاری در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند. در این تحقیق نمک پروپیونات سدیم از شرکت سیگما⁶ (آلمان) خریداری شد. 48 قطعه ماهی کپور با میانگین وزنی $25/99 \pm 4/43$ تحت جیره غذایی حاوی 0، 0/5، 1 و 2 درصد پروپیونات سدیم (Safari و همکاران، 2016) به مدت 8 هفته تغذیه (روزانه به میزان 3 % وزن بدن) شدند. در پایان دوره به جهت سنجش شاخص‌های خونی (CBC) و بیوشیمیایی خون، خونگیری به عمل آمد. بدین منظور ابتدا ماهیان توسط پودر گل میخک (1 گرم در لیتر) بی‌هوش شدند و خونگیری از انتهای ساقه دم توسط سرنگ 2/5 سی‌سی صورت گرفت. یک بخش از نمونه‌های خون جهت سنجش فاکتورهای خون‌شناسی (گلبول قرمز، گلبول سفید، همتوکریت 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 به مدت 7 دقیقه با دور 6000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم جدا شده به ویال‌ها ریخته شده و تا زمان آزمایش در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جهت تعیین شاخص‌های خونی از روش‌های توصیف شده توسط Houston (1990) (برای خون‌شناسی ماهیان) استفاده شد. تعداد گلبول‌های قرمز و سفید پس از رقیق‌سازی با محلول دیس (با رقت 50:1) با استفاده از لام نئوبار مورد سنجش قرار گرفت (Rawling و همکاران، 2009).

سنجش مقدار هموگلوبین خون با استفاده از روش استاندارد سیانومت هموگلوبین توسط دستگاه اسپکتوفوتومتر و کیت تشخیصی شرکت پارس آزموں در طول موج 540 نانومتر انجام گرفت. بدین منظور ابتدا در هر لوله آزمایش 5 میلی‌لیتر محلول درابکین ریخته و سپس 20 میکرولیتر نمونه خون به آن اضافه شد. جهت همگن شدن محلول لوله‌های آزمایش به مدت 1 دقیقه بر روی دستگاه شیکر قرار گرفتند و سپس با کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر عدد جذب خوانش شد (Blaxhall و Daisley، 1973). درصد همتوکریت (HCT) با روش میکروهماتوکریت با استفاده از دستگاه میکروسانتزیفیوژ و خطکش مخصوص سنجیده شد (Danilova، 2006). 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، 2006):

ضدمیکروبی، گزینه‌ای مطمئن در صنعت خوراک آبزیان می‌باشد (Hayek و همکاران، 2013؛ Raftari، 2009؛ Skrivanova و همکاران، 2006). اثرات مثبت استفاده از اسیدهای آلی در جیره آبزیان به جهت کنترل بیماری و بهبود عملکرد رشد در گریه ماهی (*Clarias gariepinus*) (Owen و همکاران، 2006)، هیبرید تیلاپیا (*Oreochromis sp.*) (Ng و همکاران، 2009؛ Zhou و همکاران، 2009)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Sato و Pandey، 2008)، سیم دریایی (*Pagrus major*) (Hossain و همکاران، 2007) و کپور رو هو (*Labeo rohita*) (Baruah و همکاران، 2007a,b) گزارش شده است. به نظر 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 آبی می‌شود که موجب عرضه محصول در زمان کوتاه‌تر به بازار شده و در نهایت کاهش هزینه‌ها (به‌ویژه در بخش هزینه غذا) را به دنبال خواهد داشت. با این وجود هنوز اثرات اسیدهای آلی 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، 1389). شاخص‌های خونی باتوجه به اندازه، سن، وضعیت سلامتی، عوامل محیطی و نیز در مراحل مختلف رسیدگی جنسی متغیر می‌باشند. ترکیب خون در پاسخ به شرایط اکولوژیکی، فیزیولوژیکی و استرس دچار تغییرات عمده‌ای می‌شود. به‌طور کلی گلبول قرمز، ¹(MCH)، ²(MCV)، ³(MCHC)، گلبول‌های سفید، هموگلوبین، همتوکریت، گلوکز و پروتئین کل به‌عنوان شاخص‌استرس در مطالعات خون‌شناسی مطرح می‌باشند و از مهم‌ترین مؤلفه‌های دخیل در سیستم ایمنی غیر اختصاصی می‌باشند (فرزانه، 1384).

ماهی کپور معمولی⁴ 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، 1383؛ ستاری و همکاران، 1382). در حال حاضر مطالعات اندکی در رابطه با خواص تغذیه‌ای اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها 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، 2011). از آن‌جاکه تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثر نمک پروپیونات سدیم⁵ 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

⁵ Sodium propionate

⁶ Sigma

¹ Mean Corpuscular Hemoglobin

² Mean Corpuscular Volume

³ Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

⁴ Common carp

کردند (تیمار 0/5 و 1 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 3 تیمار آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد یک روند افزایشی را نشان داد. همچنین MCHC و MCV تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای آزمایشی نشان ندادند ($P>0/05$). هرچند که در میزان MCV یک روند افزایشی بین تیمارهای 1% و 2% 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 1% 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 2% بالاترین میزان گلبول قرمز را در بین تیمارهای آزمایشی نشان می‌دهد ($P<0/05$). همچنین از نظر تعداد گلبول‌های سفید در بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P<0/05$), به‌طوری که بیش‌ترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای 0/5 و 2 درصد مشاهده گردید که این اختلاف بین تیمار 0/5 و 2% معنی‌دار نبود ($P>0/05$), به‌طوری که کم‌ترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد.

10 × تعداد یاخته‌های قرمز (برحسب میلیون بر متر مکعب) // MCV= هماتوکریت
 10 × تعداد یاخته‌های قرمز (برحسب میلیون بر متر مکعب) // هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)
 100 × هماتوکریت // هموگلوبین (برحسب گرم در دسی‌لیتر) = MCHC
 میزان گلوکز، کلسترول، پروتئین کل و آلبومین در طول موج 546 نانومتر به روش 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، 2010).

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS22 انجام گرفت. پس از مشخص شدن توزیع نرمال داده‌ها (با استفاده از آزمون شاپیرو-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 به صورت 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 1 آمده است. براساس نتایج به‌دست آمده ماهیانی که از جیره غذایی حاوی نمک پروپیونات سدیم تغذیه

جدول 1: مقایسه میانگین شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با نمک پروپیونات سدیم (0، 0/5، 1 و 2 درصد)

شاخص‌های خونی	شاهد	پروپیونات سدیم 0/5 درصد	پروپیونات سدیم 1 درصد	پروپیونات سدیم 2 درصد
گلبول قرمز ($\times 10^6$)	1/20±0/5 ^{ab}	1/40±0/18 ^a	1/07±0/12 ^b	1/16±0/15 ^{ab}
هموگلوبین (گرم بر دسی-لیتر)	4/40±0/02	4/60±0/01	4/470±0/02	4/60±0/00
هماتوکریت (درصد)	24/58±4/50	27/00±2/64	25/66±1/15	28/75±1/25
MCV (فمتولیتر)	204±33/00 ^a	196±42/08 ^a	240±20/00 ^a	250±43/00 ^a
MCH (پیکوگرم)	383/00±14/00 ^{ab}	336/00±35/00 ^b	429±45/00 ^a	399/00±48/00 ^{ab}
MCHC (درصد)	191±36/00 ^a	174/10±21/00 ^a	178/00±7/00 ^a	160/50±10/00 ^a
گلبول سفید $\times 10^3$	5/0±4/6 ^b	6/7±0/1 ^a	5/7±0/1 ^b	7/0±3/3 ^a

حروف غیرمشابه به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح 0/05 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 ($P>0/05$). از لحاظ میزان گلوکز تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ($P<0/05$). همان‌طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود در تیمارهای آزمایشی یک روند نامنظمی

مشاهده می‌شود و تیمار 2% کم‌ترین مقدار را نشان داد اما از نظر آماری با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P>0/05$). درحالی‌که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار بود ($P<0/05$). 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 ($P>0/05$).

جدول 2: مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی ماهی کپور معمولی تغذیه شده با نمک پروپیونات سدیم (0، 0/5، 1 و 2 درصد)

شاخص‌های بیوشیمیایی سرم	شاهد	پروپیونات سدیم 0/5 درصد	پروپیونات سدیم 1 درصد	پروپیونات سدیم 2 درصد
گلوکز	82/38±0/48 ^c	87/49±0/00 ^a	85/87±0/14 ^b	82/11±0/51 ^c
پروتئین کل	5/56±0/25	5/75±0/20	5/49±0/15	5/52±0/11
آلبومین	3/25±0/02	3/260±0/00	3/27±0/07	3/26±0/02
کلسترول	191/48±4/18	189/79±3/39	187/82±6/92	183/92±4/28



حروف غیرمشابه به معنی اختلاف معنی‌دار در سطح 0/05 است

بحث

نگرانی به جهت مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزی-پروری موجب شده است تا مطالعاتی در خصوص روش‌های جایگزین کنترل بیماری آغاز شود. در حال حاضر محققین تمایل بسیاری به جهت استفاده تجاری از محرک‌های ایمنی طبیعی نظیر پروبیوتیک‌ها، پریبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها در خوراک آبزیان دارند که تمامی این ترکیبات باعث بهبود عملکرد رشد و ایمنی می‌شوند (Dasilva و همکاران، 2015؛ Perez-Sanchez و همکاران، 2011؛ Luckstadt، 2008). بیش‌تر اسیدهای آلی به‌دلیل ساختار ساده و اندازه کوچک می‌توانند عملکرد مفیدی داشته باشند و به‌راحتی به درون سلول نفوذ کنند (Siebert و Nakai، 2003). اسیدهای آلی با کاهش pH غذا از رشد فلور میکروبی در غذا جلوگیری کرده و موجب کاهش جذب ارگانسیم‌های پاتوژن احتمالی و متابولیت‌های سمی آن‌ها از طریق غذا در جانوران پرورشی می‌شوند (Freitag، 2007). گزارشات متعددی مبنی بر اثرات چندین اسید آلی و نمک‌های آن‌ها بر روی مصرف غذا، افزایش رشد و ایمنی ماهی وجود دارد (Luckstadt، 2008؛ Baruah و همکاران، 2007؛ Sarker و همکاران، 2007). به‌عنوان مثال تغذیه ماهی تیلپپای 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، 2005). همچنین در مطالعه‌ای استفاده از 6 نوع نمک سدیم در تغذیه میگوی وانامی *Penaeus monodon* نمک پروبیونات و بوتیرات از طریق مهار عوامل بیماری‌زا و افزایش راندمان تغذیه باعث بهبود عملکرد بدن میگوی وانامی شدند (Da Silva و همکاران، 2013). اما مطالعات جامعی در خصوص اثر اسیدهای آلی و نمک‌های آن بر روی فاکتورهای خون‌شناسی و بیوشیمیایی مرتبط با ایمنی خون ماهی کپور معمولی وجود ندارد. تنها تعداد محدودی از مطالعات در خصوص بهبود عملکرد ایمنی همورال در میگو انجام شده است. به‌عنوان مثال استفاده از نمک پروبیونات و بوتیرات سدیم در میگوی وانامی *Penaeus monodon* در غلظت‌های مختلف باعث تغییر فلور باکتریایی روده، بهبود تیترا آگلوتیناسیون سرم و ارتقای عملکرد رشد در تیمارهای آزمایشی حاوی نمک شد (Da Silva و همکاران، 2014).

میزان هموگلوبین و هماتوکریت تابعی از تغییرات گلبول قرمز می‌باشد و رابطه مستقیم با آن دارد (گازرانی‌فراهانی، 1381). تعداد هموگلوبین و درصد هماتوکریت در تیمارهای آزمایشی یک‌روند افزایشی را نشان دادند هرچند که این تفاوت معنی‌دار نبود ($P>0/05$). گلبول قرمز در تیمار 2% پروبیونات سدیم دارای افزایش معنی‌دار نسبت به گروه شاهد شده است ($P<0/05$). این افزایش می‌تواند ناشی از اثر نمک پروبیونات بر محیط روده‌ای باشد. چرا که اسیدهای آلی و نمک‌های آن اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه (C1-C7) می‌باشند (Wing-Keong و همکاران، 2009) و تحقیقات انجام شده مشخص کرده است که

ورود اسیدهای چرب کوتاه زنجیره به روده سبب افزایش جریان خون می‌شود (Cherbut و همکاران، 1997).

همچنین شاخص MCV با وجود عدم تفاوت معنی‌دار یک روند افزایشی در بین تیمارهای 3 و 4 نسبت به گروه شاهد را نشان دادند ($P>0/05$). افزایش حجم گلبول قرمز نشان‌دهنده عدم وجود استرس سبب تسهیل حرکت و تعلیق گلبول‌های قرمز شده و سرعت رسوب و لخته‌گی آن‌ها درون رگ را کاهش می‌دهد که این موضوع نتیجه مثبت در روند فیزیولوژی دستگاه گردش خون را به‌همراه دارد (Tangestani و همکاران، 2011). MCH روند افزایشی در بین تیمارهای آزمایشی را نشان داد ($P<0/05$).

تعداد گلبول‌های سفید خون در تیمارهای 0/5 و 2% نمک پروبیونات سدیم افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت ($P<0/05$). از آن‌جاکه 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 همورال 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، 2011؛ Marian، 2004؛ Thrall، 2004؛ Kajita و همکاران، 1990). احتمالاً افزایش تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند نشانه اثرات مثبت نمک پروبیونات سدیم به‌عنوان محرک دستگاه ایمنی باشد. در مطالعه‌ای که توسط جافرنوده (1395) در بررسی اثر توأم برخی اسیدهای آلی با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس-کازئی (*Lactobacillus casei*) در پرورش بچه‌ماهیان قزل‌آلای - رنگین‌کمان (*mykiss Oncorhynchus*) صورت گرفته است، نتایج به‌دست آمده حاکی از عدم تأثیر معنی‌دار اسیدهای آلی با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی بر شاخص‌های خونی (درصد هماتوکریت، غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول قرمز و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید) بود ($P>0/05$). ولی تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ترکیبی پروبیوتیک *L. casei* و اسید آلی پتاسیم سوربات به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/05$). که از نظر تعداد گلبول سفید با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. احتمالاً سایر اختلافات به-دلایلی مانند نوع گونه ماهی، سن ماهی، شرایط پرورش ... می‌باشد.

کلسترول بعد از ساخته شدن در کبد در غشای ساختار سلولی به‌کار می‌رود، 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، 1975). در بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی خون، براساس نتایج به‌دست آمده نمک پروبیونات سدیم موجب کاهش مقدار کلسترول در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد شد. البته این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P>0/05$), که احتمالاً این کاهش می‌تواند به‌دلیل بهبود سیستم ایمنی و در نتیجه کاهش میزان کلسترول در تیمارهای آزمایشی باشد.

میزان گلوکز به عنوان شاخص پاسخ به استرس مطرح می-باشد چراکه این قند منبع انرژی مهمی جهت مقابله با استرس فیزیولوژیکی برای ماهی می-باشد (Hanaee Kashani و همکاران، 2012). در بررسی های انجام شده در این مطالعه میزان گلوکز در تیمار 2% دارای کمترین مقدار بود البته این مقدار با گروه شاهد از نظر آماری معنی دار نبود ($P>0/05$) و با دو تیمار دیگر به صورت معنی داری اختلاف وجود داشت ($P<0/05$). با این حال باتوجه به کمبود اطلاعات و تحقیقات کافی در زمینه اثرات نمک اسیدهای آلی بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون مانند گلوکز تحقیقات بیشتری را در آینده می-طلبد.

سنجش سطح پروتئین های سرم خون شاخص مناسبی برای بررسی وضعیت ایمنی شناسی ماهی می-باشد (رضایی پور و همکاران، 1382). در تحقیق حاضر میزان آلبومین و پروتئین کل سرم خون اختلاف معنی داری را بین تیمارهای مورد مطالعه نشان نداد ($P>0/05$)، که عدم تغییر در میزان پروتئین خون می-تواند به دلیل عدم استفاده از ذخایر پروتئینی در ماهی باشد (حاجی مرادی، 1386).

باتوجه به این که طول مدت زمان آزمایش نیز می-تواند تأثیر قابل ملاحظه ای بر شاخص های مورد بررسی داشته باشد (مهدوی و همکاران، 1393)، احتمالاً با افزایش دوره پرورش نتایج به-دست آمده از سنجش فاکتورهای مورد بررسی در این تحقیق معنی دار شود. اگرچه در برخی فاکتورهای خونی اختلاف معنی-داری وجود نداشت اما نتایج ظاهری نشان دهنده برتری مقادیر مورد بررسی در تیمارهای تغذیه شده با جیره حاوی نمک پروبیونات سدیم در مقایسه با گروه شاهد می-باشد. چرا که مواد محرک سیستم ایمنی لزوماً نمی-توانند اثر معنی داری بر شاخص-های هماتولوژیک از جمله تعداد گلبول قرمز، مقدار هموگلوبین و درصد هماتوکریت داشته باشند. این مطلب در مورد بسیاری از محرک های ایمنی مانند پرپیوتیک و پروبیوتیک ها، عصاره های گیاهی گزارش شده است (جواهرزاده ذوقول و همکاران، 1391؛ علیشاهی و همکاران، 1391؛ مهاجر استرآبادی و همکاران، 1391؛ اکرمی و همکاران، 1390).

بررسی ها نشان می-دهد که تحریک گلبول های سفید در ماهیان و صدف ها سبب بالا رفتن تولید آنتی بادی می-شود (Gatesoupe، 1999)، همچنین گلبول های سفید نقش مهمی در فعالیت های فاگوسیتوزی و پاسخ ایمنی به مبارزات باکتریایی، ویروسی و انگلی دارند (Houston، 1990). از آنجایی که فاکتورهای خونی در حیوانات خون سرد به ویژه ماهی تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند استرس، گونه، جنس، سن، شرایط تغذیه ای، دقت و حساسیت روش های اندازه گیری و... می-باشد. این عوامل می-تواند فعالیت فراسنجه های خونی را تحت تأثیر قرار دهد و در نتیجه باعث اختلاف در تفسیر نتایج می-شود بنابراین شاخص قطعی برای بررسی وضعیت سلامتی و ایمنی ماهی به شمار نمی-رود (Iwama و همکاران، 1996). لذا مطالعه سایر مؤلفه ها به جهت تکمیل مطالعه حاضر مانند بررسی بیان ژن های ایمنی و دیگر شاخص های ایمنی مانند لیزوزیم و کمپلمان تام نیز مورد نیاز می-باشد.

در چند دهه اخیر استفاده از محرک های ایمنی طبیعی مانند اسیدهای آلی و نمک آن ها با توجه به مزیت های 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 پروبیونات سدیم به جیره غذایی می-تواند سبب تقویت برخی مؤلفه های دخیل در سیستم ایمنی غیر اختصاصی شود. اما مطالعات بیشتری می-بایست به منظور تعیین اثر و میزان سطوح نمک پروبیونات 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 می-توانند بر پتانسیل عملکرد اسیدهای آلی در آبی پروری اثرگذار باشند.

منابع

1. اکرمی، ر.؛ قلیچی، ا. و احمدی، ا.، 1390. تأثیر پرپیوتیک اینولین جیره غذایی بر شاخص های هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان (*Huso huso*) جوان پرورشی. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره 66، شماره 2، صفحات 131 تا 136.
2. جعفرنوده، ع.، 1395. بررسی خواص سینرژیستی برخی اسیدهای آلی با پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازنی (*Lactobacillus casei*) در پرورش بچه ماهیان قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پایان نامه جهت دریافت درجه دکترای تخصصی (Ph.D.) تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه ارومیه. 135 صفحه.
3. جواهرزاده ذوقول، ف.؛ علیشاهی، م.؛ چله مال دزفولی نژاد، م. و جواهری، م.، 1391. تأثیر سطوح مختلف ویتامین C بر برخی شاخص های ایمنی و خونی ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*). مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سمنان. دوره 6، شماره 1، صفحات 47 تا 56.
4. مهاجر استرآبادی، م.؛ وهاب زاده، ح.؛ زمینی، ع.؛ سوداگر، م. و قربانی، ر.، 1391. تأثیر سطوح مختلف پرپیوتیک ایمونژن در جیره غذایی بر برخی از شاخص های خونی و ایمنی فیل ماهیان جوان. نشریه توسعه آبی پروری. دوره 6، شماره 1، صفحات 131 تا 140.
5. حاجی مرادی، م.؛ محبوبی صوفیانی، ن. و علامه، س.ب.، 1386. اثر گرسنگی بر سطح کلسترول، گلوکز و پروتئین پلاسما خون قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مجله علوم و فنون دریایی. دوره 6، شماره 3، صفحات 23 تا 30.
6. رضایی پور، ر.؛ کمالی نژاد، م.؛ کاظمی فروز، ف. و فدایی، ش.، 1382. بررسی اثرات چهار گیاه دارویی بر سیستم ایمنی سلولی. مجله علوم پزشکی. جلد 1، شماره 2، صفحات 73 تا 78.
7. ستاری، م.؛ شاهسونی، د. و شفیعی، ش.، 1382. ماهی شناسی (2). انتشارات حق شناس. چاپ اول، 502 صفحه.
8. علیشاهی، م.؛ سلطانی، م.؛ مصباح، م. و زرگر، ا.، 1391. اثرات تحریک ایمنی و رشد لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره 67، شماره 2، صفحات 135 تا 142.
9. فرزانه، ع.، 1384. تکثیر و پرورش آزاد ماهیان. انتشارات موسسه تحقیقات شیلات ایران. 180 صفحه.
10. گزرائی فراهانی، ش.، 1388. بررسی برخی شاخص های هماتولوژیک در بعضی از ماهیان خانواده *Acipenseridae*.



- Performance. 1st ed, Nottingham University Press, Nottingham, UK. pp: 1-11.
26. **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.
27. **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.
28. **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.
29. **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.
30. **Houston, A., 1990.** Blood and circulation, In: Shreck CB, Moyle PB (Editors). Methods for fish biology. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. 704 p.
31. **Iwama, G. and Nakanishi, T., 1996.** The fish immune system. Academic Press, London. Chapter 3: innate Immunity in fish. 380 p.
32. **Lehninger, A., 1975.** Biochemistry. Journal of Basic Microbiology. Vol. 17, pp: 86-87.
33. **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.
34. **Kajita, Y.M.; Sakai, S. and Atsuta, M., 1990.** The immunomodulatory effects of levamisole on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish Pathology. Vol. 25, pp: 93-98.
35. **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.
36. **Martínez, S.G.J.; Castañeda, P.R.; Guzmán, A.G.; Saucedo, 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.
37. **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.
38. **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.
39. **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.
40. **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.
41. **Owen, M.A.G.; Wainess, 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.
- فصلنامه علمی پژوهشی زیست‌شناسی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان. سال 2، شماره 1، صفحات 57 تا 61.
11. **مهدوی، س.؛ یگانه، س.؛ فیروزبخش، ف. و جانی‌خلیلی، خ.، 1393.** 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 3، شماره 3، صفحات 79 تا 90.
12. **وثوقی، غ.م. و مستجیر، ب.، 1383.** ماهیان آب شیرین. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ ششم، 317 صفحه.
13. **Alderman, D.J., 2002.** Trends in therapy and prophylaxis. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists. Vol. 22, pp: 117-125.
14. **Azarín, 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.
15. **Blaxhall, P.C. and Daisley, W., 1973.** Routine haematological methods for use with fish blood. Journal of Fish Biology. Vol. 5, pp: 771-781.
16. **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.
17. **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.
18. **Cherbut, C.; Aube, A.; Blottiere, H. and Galmiche, J., 1997.** Effects of short-chain fatty acids on gastrointestinal motility. Scandinavian journal of gastroenterology Supplement. Vol. 222, pp: 58-61.
19. **Danilova, N., 2006.** The evolution of immune mechanisms. Journal of Experimental Zoology Part B Molecular and Developmental Evolution. Vol. 306, pp: 496-520.
20. **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.
21. **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.
22. **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.
23. **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
24. **FAO. 2010.** Year book, fishery and aquaculture statistics.
25. **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



- broiler chickens. British Poultry Science. Vol. 52, pp: 292-301.
57. **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.
 42. **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.
 43. **Partanen, K.H. and Mroz, Z., 1999.** Organic acids for performance enhancement in pig diets. Nutrition Research Reviews. Vol. 12, pp: 117-145.
 44. **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.
 45. **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.
 46. **Ramli, N.; Heindl, U. and Sunanto, S., 2005.** Effect of potassium diformate on growth performance of tilapia challenged with *Vibrio anguillarum*. Abstract, World Aquaculture, Bali, Indonesia.
 47. **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.
 48. **Safari, R.; Hoseinifar, S.H.; Nejadmoghadam, S.H. and Jafar, A., 2016.** Transcriptomic 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.
 49. **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.
 50. **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.
 51. **Siwicki, A.K.; Zakes, Z.; Fuller, J.C.; Nissen, S.; Trapkowska, S. and Glabski, E., 2005.** β -hydroxy- β -methylbutyrate on nonspecific humoral defense mechanisms and protection against furunculosis in pikeperch (*Sander lucioperca*). Aquaculture Research. Vol. 37, pp: 127-31.
 52. **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.
 53. **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.
 54. **Thrall, M.A., 2004.** Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Lippincott Williams and Wilkins, USA. pp: 241-402.
 55. **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.
 56. **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

