تاثیر غلظت‌های مختلف دی فرمات سدیم بر شاخص‌های بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی سرم در ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*)

- **حسین مومنی:** گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
- **مهرزاد مصباح:** گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
- **تکاور محمدیان*:** گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
- **محمدرضا تابنده:** گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
- **محمد خسروی:** گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۸

چکیده

ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius*) یکی از ۹ زیرگونه قزل‌آلای قهوه‌ای در جهان و از گونه‌های بومی ایران می‌باشد که در معرض خطر انقراض می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسیدی‌فایر دی فرمات سدیم بر روی شاخص‌های بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی سرم در ماهی آزاد دریای خزر بود. بدین‌منظور، تعداد ۳۶۰ قطعه بچه‌ماهی آزاد دریای خزر با وزن حدود ۰/۰۵±۱۳ گرم به‌مدت ۶۰ روز با به‌کارگیری چهار جیره شامل سطوح صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد، از دی فرمات سدیم در ٤ تیمار و ۳ تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. خونگیری از ماهیان در شروع آزمایش، روز۳۰ و پس از پایان دوره از قسمت ساقه دمی، انجام شد. در هر بار نمونه‌برداری بعد از خونگیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و مالون دی آلدهید (MDA) و هم‌چنین میزان تری‌گلیسرید، کلسترول، لاکتات دی هیدروژناز LDH و گلوکز توسط روش‌های بیوشیمیایی تعیین شد. نتایج نشان داد که مقدار گلوکز در ۳۰ روز ابتدایی آزمایش در همه تیمارها اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است. مقدار کلسترول سرم خون در روز ۳۰ در تیمار ۰/۵ درصد و در روز ۶۰ در تیمار ۱ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشته است. مقدار تری‌گلیسرید در تمام گروه‌ها به‌جز تیمار ۱ درصد در انتهای دوره افزایش معنی‌داری نسبت به شروع آزمایش داشته است. هم‌چنین در تیمار ۰/۵ و ۱/۵ درصد در روز صفر و ۳۰ با روز ۶۰ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. میزان آنزیم LDH در روز ۳۰ نمونه‌برداری، در تیمار ۱ درصد کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است. در مورد میزان کاتالاز سرم در روز ۶۰ آزمایش اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای اسیدی‌فایر با گروه شاهد مشاهده نشد. میزان SOD پس از ۶۰ روز نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبوده است. میزان فعالیت مالون دی آلدهید در تیمار ۱ درصد در روز ۳۰ و ۶۰ نمونه‌برداری و تیمار ۱/۵ درصد در روز ۶۰، اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشتند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تیمارهای اسیدی‌فایر به‌خصوص تیمار ۱ و ۱/۵ درصد تاثیر معنی‌دار در فاکتور بیوشیمایی و دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی آزاد تا ۳۰ روز اول از خود نشان داده‌اند اما در ۳۰ روز دوم ازمایش نتایج برعکس بود.

کلمات کلیدی: اسیدهای چرب کوتاه زنجیره، ماهی آزاد دریای خزر، دی فرمات سدیم، شاخص‌های بیوشیمیایی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: tak.mohammadian@gmail.com

(DOI): 10.22034/aej.2020.117621

مقدمه

با افزایش جمعیت که منجر به رشد جهانی شده است، تقاضا برای تامین غذا و پروتئین افزایش پیدا کرده است که در نتیجه آن توسعه آبزی‌پروری را به‌دنبال داشته است، ولی نه فقط به‌دلیل اثرات مفیدمصرف آبزیان در انسان، بلکه با اعمال فشار کم‌تر بر منابع طبیعی آبزیان (Gormaz و همکاران، ۲۰۱۴؛ Alexandratos و Bruinsma، ۲۰۱۲) این مهم انجام شده است.در کنار توسعه پرورش گونه‌های غیر بومی،معرفی گونه‌های بومی جهت پرورش،می‌تواندیک منبع جایگزین موثر و مقرون به‌صرفه از غذا باشد که بدون هیچ تهدید زیست‌محیطی یا بیماری‌زا، این نیاز غذایی را برطرف می‌سازد (Saint Paul، ۲۰۱۸؛ Arthur و همکاران، ۲۰۱۰؛ Frisch و Murra، ۲۰۰۲).ماهی آزاد دریای خزر (*Salmo trutta caspius* ,Kessler, 1877) به‌عنوان زیرگونه ماهی قزل‌آلای قهوه‌ای، که در سراسر دریای خزر پراکندگی دارد در اثر بهره‌برداری بیش ازحد و آلودگی‌های‌محیطی، جمعیت آن‌در سال‌های اخیربا کاهش مواجه شده است(Niksirat و Abdoli،۲۰۰۹؛ Kocabaş و Başçinar، ۲۰۱۳). از سوی دیگر، کیفیت فیله بالاتر و عملکرد بهتر رشد (در مقایسه با سایر گونه‌های قزل‌آلا موجود در این منطقه) این گونه را برای آبزی‌پروری در مقیاس بزرگ در ایران توصیه کرده است (Kalbassi، ۲۰۰۶).رشدسریع آبزی‌پروری‌منجر به‌افزایش‌بیماری‌های عفونی نوظهور در آبزیان پرورشی شده است که این موضوع منجر به استفاده بی‌حد و حصر از آنتی‌بیوتیک‌ها برای کنترل شیوع بیماری‌ها و تا حدی برای پیشگیری از بروز عوامل عفونی شده است (Cabello، ۲۰۰۶). حجم عمده‌ای از این آنتی‌بیوتیک‌ها وارد آب می‌شود و باعث افزایش شیوع مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در پاتوژن‌های ماهی (و دیگر حیوانات و انسان)،می‌گردد که‌توجیه ضرورت استفاده از مواد جایگزین مثل پروبیوتیک‌ها درکنترل بیماری‌های باکتریایی(Denevو همکاران، ۲۰۰۹؛ Kav و Erganis، ۲۰۰۸؛) است.علاوه بر پروبیوتیک، اسیدهای آلی و نمک‌های‌آن‌ها، تحت‌عنوان اسیدی‌فایر به‌عنوان‌نگه‌دارنده (Kim و همکاران، ۲۰۰۵) افزاینده رشد با متعادل‌سازی میکروفلور روده (Canibe و همکاران، ۲۰۰۱) در تغذیه دام معرفی شده‌است. اسیدی فایرها می‌توانند هضم مواد معدنی را به‌وسیله کاهش pH روده بهبود ببخشند و نیز ترشح برخی آنزیم‌ها را منجر شوند (Vielma و Lall، ۱۹۹۷). اسیدهای آلی ترکیباتی هستند که بین یک تا هفت اتم کربن داشته و به‌طور گسترده درگیاهان و حیوانات وجود دارند. این ترکیبات طی فرآیند تخمیر میکروبی تولید می‌شوند. اسیدهای آلی با حفظ pH مناسب دستگاه گوارش سبب بهبود اثر آنزیم‌ها بر مواد غذایی و فراهم شدن مواد غذایی بیش‌تری برای حیوانات پرورشی می‌شوند که نتیجه آن کاهش مواد غذایی جذب نشده مناسب برای رشد باکتری‌ها است (Eidelsburger، ۱۹۹۸). اسیدهای‌آلی در دستگاه‌گوارش به دو صورت عمل می‌کنند، از طریق کاهش سطح pH در معده و جداسازی اسید از سلول باکتری (Liu، ۲۰۰۱). هم‌چنین وجود اسیدهای آلی در غذا باعث‌افزایش‌ترشح آنزیم‌های پانکراسی و درنتیجه افزایش هضم‌پذیری مواد معدنی خواهند شد اسیدفرمیک یک اسید آلی ضعیف و غیرسمی است که از سال ۱۹۴۶ میلادی به‌عنوان یک افزودنی غذایی به‌کار می‌رود (Xie و همکاران، ۲۰۰۳؛ Malone،۲۰۰۰؛ Kalantarian و همکاران، ۲۰۱۹). از اسیدهای آلی به‌عنوان محافظت‌کننده موادغذایی استفاده شده است زیرا باعث کاهش باکتری‌ها در غذا می‌شود (Luckstadt، ۲۰۰۸). اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها قادر به مهار رشد میکروبی در غذا و درنتیجه حفظ تعادل میکروبی در دستگاه گوارش می‌باشند (Freitag، ۲۰۰۷). هم‌چنین این اسیدها با نفوذ به دیواره‌سلولی باکتری باعث افزایش‌نفوذ پروتون به‌داخل‌سلول‌می‌شوند، 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). Hassaan و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که از دیدگاه تغذیه‌ای، مکانیسمی که توسط آن اسید آلی لاکتات کلسیم، باعث بهبود پارامترهای بیوشیمیایی و رشد در تیلاپیای‌نیل ممکن‌است به‌دلیل نقش این اسیدی‌فایر در افزایش جمعیت مفید میکروارگانیسم موجود در دستگاه گوارش و مهار کننده پاتوژن های بالقوه، که باعث بهبود تعادل میکروبی روده و فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه بهبود قابلیت هضم خوراک و جذب مواد مغذی می‌شود، نسبت‌داده شود. باتوجه به این‌که هدف نهایی انواع فعالیت‌های آبزی‌پروری، افزایش بازده تولید، ارتقاء کیفیت محصول و افزایش میزان سود دهی می‌باشد. اسیدهای آلی می‌توانند به‌عنوان یک محرک رشد مورد استفاده قرار گیرند و در نتیجه باعث کاهش هزینه تولید شوند (Luckstad ۲۰۰۸). اسیدهای ارگانیک‌و نمک‌های آن‌ها به‌عنوان‌عوامل افزایش‌دهنده رشد و به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد (AGP) در خوراک دام مورد استفاده قرار می‌گیرند (Casewell و همکاران ۲۰۰۳). Lim و همکاران(۲۰۱۰) گزارش کردند به‌کار بردن‌مقادیرمختلفی اسیدی‌فایر در جیره غذایی، فاکتورهای خونی (گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین) را در ماهی تغییر نمی‌دهد. در مطالعه دیگر در ماهی روهو (*Labeo rohita*) استفاده از اسیدسیتریک به‌میزان ۳ درصد اثری بر روی تعداد گلبول قرمز نداشته ولی هموگلوبین و هماتوکریت به شکل‌معنی‌داری‌افزایش‌یافت(Baruahو همکاران،۲۰۱۰). Khajepour و همکاران (۲۰۱۱) اعلام نمودند میزان گلوکز سرم و پروتئین کل در ماهی بلوگا تغذیه شده با سیتریک اسید تحت تأثیر قرار نگرفته است. با توجه به پتانسیل اسیدهای آلی مانند سدیم دی‌فرمات در

(DOI): 10.22034/aej.2020.117621

عملکرد مناسب سلامت ماهی و اثرات مفید آن‌ها بر پارامترهای فیزیولوژیکی میزبان، هدف از مطالعه حاضر تاثیر سطوح مختلف اسید آلی سدیم‌دی‌فرمات در جیره غذایی بر برخی از شاخص‌های بیوشیمیایی و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در ماهی آزاد دریای خزر بوده است.

مواد و روش‌ها

تهیه بچه‌ماهی: تعداد ۳۶۰ قطعه ماهی آزاد دریای خزر با وزن ۱۳±۰/۰۵ گرم از مرکز تکثیر و پرورش باهنر کلاردشت تهیه و پس از سازگاری در مزرعه پرورش ماهی قزل آزاد گیلان واقع در شهرستان رضوانشهر استان گیلان برای این آزمایشات مورد استفاده قرار گرفتند.

جدول ۱: اجزای خوراک استفاده شده در تحقیق حاضر

اجزای اولیه خوراک	بر حسب (درصد)
پودر ماهی	۴۲
سویا	۲۰
ذرت	۱۲
روغن	۱۰
مکمل ویتامینه و معدنی	۴
نمک	۲
پرکننده	۱۰

جدول ۲: آنالیز اجزای خوراک استفاده شده در تحقیق حاضر

آنالیز خوراک	بر حسب (درصد)
پروتئین	۳۷
چربی	۱۵
خاکستر	۱۰
رطوبت	۸

طراحی و شرایط آزمایش: تعداد ۳۶۰ قطعه بچه‌ماهی به‌صورت کاملاً تصادفی در ۴ تیمار و ۳ تکرار برای هر ماهی به‌طور جداگانه تقسیم شدند، به‌طوری‌که هر تکرار شامل ۳۰ قطعه بچه‌ماهی بود: تیمار اول: تغذیه شده با خوراک حاوی ۰/۵ درصد سدیم دی فرمات در کیلوگرم خوراک (A)، تیمار دوم: تغذیه شده با خوراک حاوی ۱ درصد سدیم دی فرمات در کیلوگرم خوراک (B)، تیمار سوم: تغذیه شده با خوراک حاوی ۱/۵ درصد سدیم دی‌فرمات در کیلوگرم خوراک (C)، تیمار چهارم: تغذیه شده با خوراک فاقد اسیدی‌فایر (D) بر روی غذای گروه شاهد فقط سرم فیزیولوژی استریل اسپری شد (Kalantarian و همکاران، ۲۰۱۹). بچه‌ماهی‌ها در مخازن ۱۷۰۰ لیتری (که قبلاً با فرمالین ضدعفونی شده‌اند) توزیع گردیدند. مقدار غذای روزانه براساس دمای متوسط آب، وزن و تعداد ماهیان موجود در مخازن پرورشی بر اساس جدول غذادهی کارخانه سازنده خوراک محاسبه گردید. دمای آب ۲±۱۵ درجه سانتی‌گراد و تعویض آب مخازن هر دو روز یک‌بار انجام می‌شد. مراحل آزمایش ۶۰ روز به‌طول انجامید. به‌منظور ارزیابی اثر غلظت‌های اسیدی‌فایر در روزهای صفر، ۳۰ و ۶۰ پس از تغذیه با جیره غذایی دارای اسیدی‌فایر، از هر تیمار ۹ قطعه ماهی (۳ قطعه ماهی از هر تکرار) خونگیری و جداسازی سرم صورت پذیرفت (Mohammadian و همکاران، ۲۰۱۶). نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

سنجش پارامترهای بیوشیمیایی واکسیدان/آنتی‌اکسیدانی: اندازه‌گیری سطح فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH) سرم با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون براساس تبدیل پیرووات به لاکتات صورت گرفت. میزان فعالیت این دو آنزیم براساس شدت جذب نور در طول موج ۳۴۰ نانومتر و در طی ۳ دقیقه اندازه‌گیری و برحسب میزان جذب نوری و براساس فرمول اختصاصی کاتالوگ محاسبه گردید (Moss و Henderson،۱۹۹۹). اندازه‌گیری گلوکز سرم براساس روش آنزیمی گلوکز اکسیداز صورت گرفت. در این روش، آب اکسیژنه با یک فنل و آمینوآنتی پیرین (AAP) و در حضور آنزیم پراکسیداز تشکیل محصول قرمز رنگی به‌نام کینونیمین می‌دهد که در طول موج ۵۱۰ نانومتر رنگ‌سنجی شده و برحسب میزان جذب نوری و سطح گلوکز استاندارد و براساس فرمول ارائه‌شده در کاتالوگ محاسبه گردید (Sacks، ۱۹۹۹).اندازه‌گیری کلسترول براساس روش آنزیمی کلسترول اکسیداز آمینوآنتی‌پیرین (CHO-PAP) صورت گرفت (Rifai و همکاران، ۱۹۹۹). اندازه‌گیری تری‌گلیسرید براساس روش آنزیمی تری‌گلیسرید اکسیداز آمینو آنتی پیرین (GPO-PAP) صورت گرفت. در این روش، تری‌گلیسرید توسط آنزیم لیپاز به گلیسرول و اسیدچرب هیدرولیز می‌شود.سپس گلیسرول در طی چند واکنش متوالی به تولید محصول آب اکسیژنه می‌انجامد. آب اکسیژنه تولید شده نیز توسط واکنش ترینر اندازه‌گیری می‌شود (Rifai و همکاران، ۱۹۹۹). سنجش آنزیم کاتالاز در سرم براساس روش (Koroluk و همکاران،۱۹۸۸) صورت گرفت. سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) از روش تقلیل رنگ نیتروبلوتترازولیوم (NBT) استفاده شد که اساس کار به‌شرح زیر بوده است: ۰/۱ میلی‌لیتر سرم به ۲ میلی‌لیتر محلول واکنش‌پذیر که شامل ۰/۲ میلی‌مول گزانتین، ۰/۱۲ میلی‌مول NBT، ۰/۴۹ واحد گزانتین اکسیداز و ۰/۱ مول بافر فسفات (pH=۷) است اضافه و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شده است. میزان سوپراکسید دیسموتاز از طریق سنجش تقلیل رنگ آبی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر سنجیده و نتایج به صورت درصد کاهش مهار آن قرائت شد (Peixoto و همکاران،۲۰۱۳). مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی بر مبنای

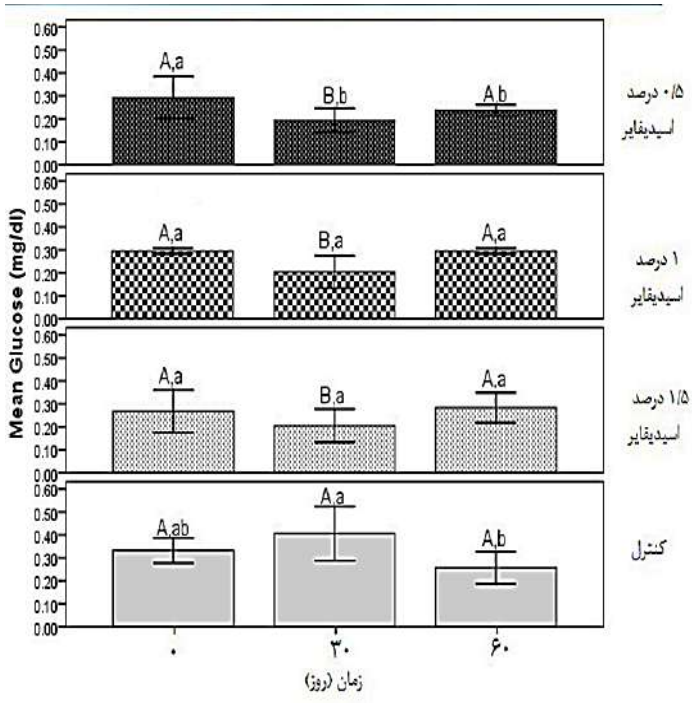
(DOI): 10.22034/aej.2020.117621

واکنش آن با تیوباربیتوریک‌اسید و براساس روش گزارش شده توسط (Latha و Pari، ۲۰۰۳) با کمی تغییر اندازه‌گیری شد.

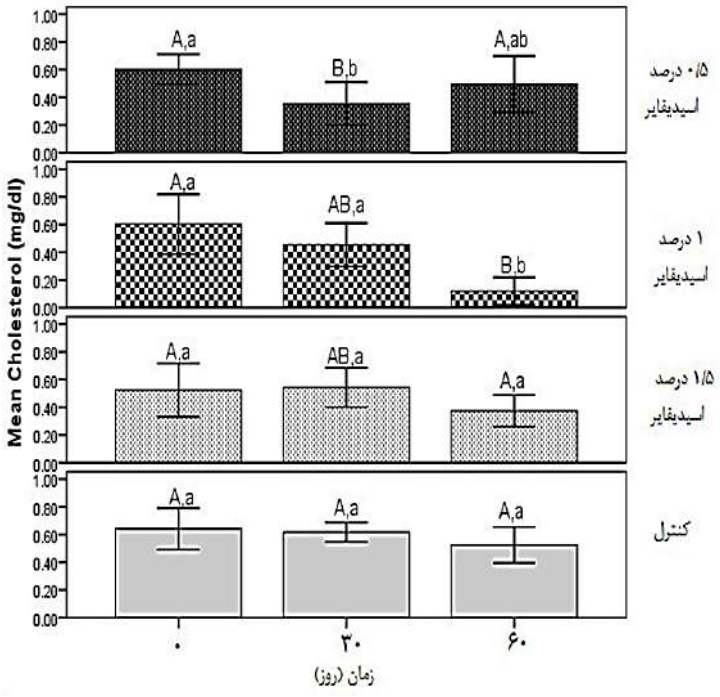
تجزیه و تحلیل داده‌ها: به‌منظور نرمال سازی داده‌ها از آزمون آماری Kolmogorov-smirnov استفاده شد. جهت آنالیز داده‌ها و هم‌چنین تعیین اثر متقابل در متغییرها از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و دوطرفه نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۲ و ضریب اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد (P<۰/۰۵). هم‌چنین به‌منظور بررسی معنی‌داری اختلاف میانگین‌ها از پس آزمون دانکن استفاده شده است. بیان داده‌ها به شکل میانگین± انحراف معیار (Mean±SD) می‌باشد.

نتایج

مقدار گلوکز در ۳۰ روز ابتدایی آزمایش در همه تیمارها اختلاف معنی داری نسبت به گروه شاهد داشته است (P<۰/۰۵) ولی در روز ۶۰ آزمایش میزان گلوکز اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵). هم‌چنین در تیمار ۰/۵ درصد برخلاف گروه‌های یک و ۱/۵ درصد، بین روزهای ۳۰ و ۶۰ با روز صفر اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵) (شکل ۱). مقدار کلسترول سرم خون در روز ۳۰ در تیمار ۰/۵ درصد نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۵). مقدار کلسترول این تیمار در روز ۳۰ نسبت به روز صفر کاهش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). اما در روز ۶۰ افزایش میزان کلسترول سرم خون مشاهده شد که این افزایش معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). میزان کلسترول در روز ۶۰ در تیمار ۱ درصد اسیدی‌فایر نسبت به سایر تیمارها کاهش معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۵). در این تیمار بین روز ۶۰ با روز ۳۰ و صفر اختلاف معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵). ۶۰ روز پس از تغذیه با میزان ۱ درصد دی فرمات سدیم، میزان کلسترول سرم بچه‌ماهیان نسبت به شاهد و تیمارهای ۰/۵ و ۱/۵ درصد، و هم‌چنین نسبت به روز صفر و روز ۳۰ در همان تیمار، کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۵)(شکل ۲)مقدار تری‌گلیسرید در تمام گروه‌ها به‌جز تیمار یک درصد بعد از مصرف دی فرمات سدیم به‌مدت ۶۰ روز افزایش معنی‌داری نسبت به شروع آزمایش داشته است. هم‌چنین ۳۰ روز پس از شروع آزمایش، میزان تری‌گلیسرید در تمام تیمارها به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود و در تیمارهای ۰/۵ و ۱/۵ درصد هم به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمار ۱ درصد بود (P<۰/۰۵) (شکل ۳).



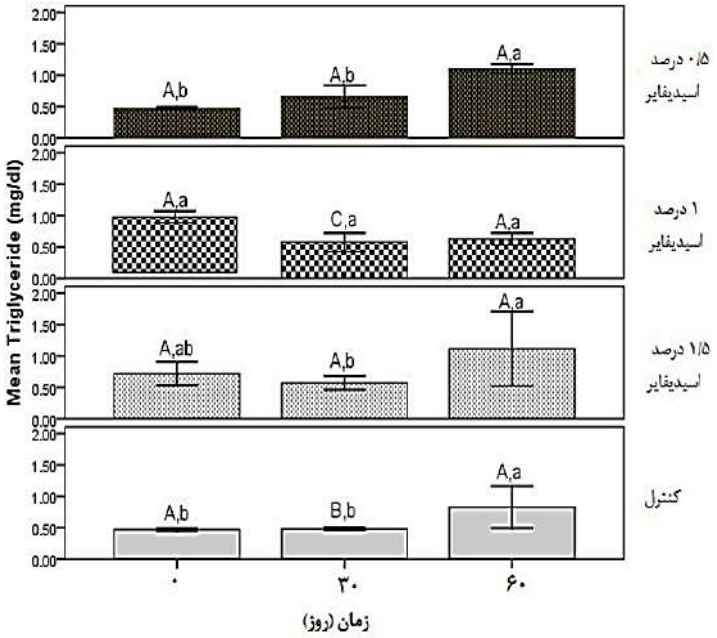
شکل ۱: مقایسه میزان گلوکز سرم بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر (*S. trutta caspius*) در روزهای صفر،۳۰ و ۶۰ روز پس از تغذیه با سطوح مختلف دی فرمات سدیم



شکل ۲: مقایسه میزان کلسترول سرم بچه ماهیان آزاد دریای خزر (*S. trutta caspius*) در روزهای صفر،۳۰ و ۶۰ روز پس از تغذیه با سطوح مختلف دی فرمات سدیم

بیان داده‌ها به شکل Mean±SD می‌باشد. حروف کوچک لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر سطر و حروف بزرگ ناهمنام نشانگر تفاوت معنی‌دار در هر ستون است.

(DOI): 10.22034/aej.2020.117621



شکل ۳: مقایسه میزان تری‌گلیسرید سرم بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر (*S. trutta caspius*) در روزهای ۰، ۳۰ و ۶۰ روز پس از تغذیه با سطوح مختلف دی‌فرمات سدیم

بیان داده‌ها به شکل Mean±SD می‌باشد. حروف کوچک لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر سطر و حروف بزرگ ناهمنام نشانگر تفاوت معنی‌دار در هر ستون است.

نتایج بررسی آنزیم LDH بیانگر آن است که به‌دنبال مصرف دی‌فرمات سدیم در جیره به‌مدت ۳۰ روز ، مقدار این آنزیم در تیمار ۱ درصد اسیدی‌فایر کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است (P<۰/۰۵). در روز ۶۰ مقدار این آنزیم در تمامی تیمارهای اسیدی‌فایر نسبت به گروه شاهد افزایش داشت هر چند این افزایش معنی‌داری نبوده است (P>۰/۰۵). همان‌طورکه در شکل ۳ مشاهده می‌شود در تیمارهای آزمایشی یک روند نامنظمی مشاهده می‌شود و تیمارها در روز ۶۰ بیش‌ترین مقدار را نشان دادند که از نظر آماری با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداشتند (P>۰/۰۵) (جدول ۳). نتایج مربوط به سنجش میزان کاتالاز سرم در جدول ۳ آورده شده است. نتایج حاکی از آن است که پس از مصرف اسیدی‌فایر در جیره به مدت ۶۰ روز میزان این آنزیم در تمام تیمارها اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد (P>۰/۰۵). اما در تیمار ۰/۵ درصد و گروه شاهد در روز ۶۰ با روز ۳۰ و صفر اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). میزان SOD پس از ۶۰ روز نسبت به گروه شاهد کاهش داشته ولی این کاهش معنی‌دار نبوده است (P>۰/۰۵) (جدول ۳). در روز ۳۰ نمونه‌برداری میزان فعالیت مالون دی آلدهید در تیمار ۱ درصد کاهش معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها و گروه شاهد داشت. در روز ۶۰ نمونه‌برداری نیز تیمار ۱ و ۱/۵ درصد اسیدی‌فایر اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشتند. هم‌چنین در تیمار ۱ درصد بین روزهای ۳۰ و ۶۰ اختلاف معنی‌داری با روز صفر مشاهده شد. در تیمار ۱/۵ درصد نیز روز ۶۰ با روز ۳۰ و صفر اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه میزان LDH، MDA، CAT و SOD در سرم بچه‌ماهیان آزاد دریای خزر (*S. trutta caspius*) در روزهای صفر، ۳۰ و ۶۰ روز پس از تغذیه با سطوح مختلف دی فرمات سدیم. بیان داده‌ها به شکل Mean±SD می‌باشد.

پارامترها	زمان	تیمار اول	تیمار دوم	تیمار سوم	گروه شاهد
LDH	۰	۵/۱۹±۰/۲۵۵ ^{Aa}	۷/۰۱ ± ۵/۲۶ ^{Aa}	۵/۳۴ ±۰ ^{Aa}	۵/۲۲ ± ۰/۱۹ ^{Aa}
	۳۰	۵/۵۱ ± ۰/۰۹^{Aa}	۰/۱۶ ± ۰^{Bb}	۵/۵۶ ± ۰/۰۹ ^{Aa}	۵/۳۶ ± ۰/۱۲^{Aa}
	۶۰	۶/۶۷ ± ۲/۶۷^{Aa}	۵/۰۰ ± ۰/۶۷^{Aa}	۱۰/۰۱ ± ۴/۵۶^{Ab}	۵/۳۴ ± ۰^{Aa}
MDA	۰	۰/۲۴۳ ± ۰/۱۴^{Aa}	۰/۲۲۰± ۰/۰۰۹^{Aa}	۰/۲۳۷ ± ۰/۰۱^{Aa}	۰/۲۸۷ ± ۰/۱۲^{Aa}
	۳۰	۰/۱۸۹ ± ۰/۰۹ ^{Aa}	۰/۰۴۱ ± ۰/۰۲ ^{Bb}	۰/۲۶۹ ± ۰/۰۴ ^{Aa}	۰/۲۱۳ ±۰/۰۱ ^{Aa}
	۶۰	۰/۱۶۱ ±۰/۱۰ ^{ABa}	۰/۰۳۷ ± ۰/۰۳^{Bb}	۰/۰۴۱ ±۰^{Bb}	۰/۲۳۷± ۰/۰۱^{Aa}
CAT	۰	۰/۱۹۱ ± ۰/۰۳^{Ab}	۰/۲۹۲ ± ۰/۰۲^{Aa}	۰/۳۱۲ ± ۰/۰۴^{Aa}	۰/۱۹۱ ± ۰/۰۳^{Ab}
	۳۰	۰/۲۲۹ ± ۰/۰۱^{Ab}	۰/۳۲۹ ± ۰/۱۵^{Aa}	۰/۲۹۰ ± ۰/۱۳^{Aa}	۰/۲۰۹ ± ۰/۰۴^{Ab}
	۶۰	۰/۲۸۵ ± ۱/۰۱^{Aa}	۰/۳۰۸± ۱/۱۲^{Aa}	۰/۳۷۲ ± ۰/۰۹^{Aa}	۰/۳۱۲ ± ۰/۰۴^{Aa}
SOD	۰	۰/۰۴۲ ± ۰/۰۰^{Aa}	۰/۰۴۷ ± ۰/۰۰^{Aa}	۰/۰۴۷ ± ۰/۰۰^{Aa}	۰/۰۴۳± ۰/۰۰^{Aa}
	۳۰	۰/۰۳۸± ۰/۰۰^{Aa}	۰/۰۴۶ ± ۰/۰۱^{Aa}	۰/۰۴۰ ± ۰/۰۰^{Aa}	۰/۰۴۶ ± ۰/۰۰^{Aa}
	۶۰	۰/۰۳۱ ± ۰/۰۰^{Aa}	۰/۰۴۶ ± ۰/۰۱^{Aa}	۰/۰۴۴± ۰/۰۲^{Aa}	۰/۰۴۷± ۰/۰۰^{Aa}

*حروف کوچک لاتین ناهمنام نشانگر اختلاف معنی‌دار در هر سطر و حروف بزرگ ناهمنام نشانگر تفاوت معنی‌دار در هر ستون است.

(DOI): 10.22034/aej.2020.117621

بحث

نگرانی به‌جهت مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری موجب شده است تا مطالعاتی درخصوص 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 (Perez-Sanchez و همکاران،۲۰۱۱؛ Luckstadt،۲۰۰۸). بیش‌تر اسیدهای آلی به‌دلیل ساختار ساده و اندازه کوچک می‌توانند عملکرد مفیدی داشته باشند و به‌راحتی به‌درون 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 (Freitage، ۲۰۰۷). Skinner و Walder (۱۹۹۱) نشان دادند افزودن اسید فرمیک به جیره غذایی می‌تواند نوع و تعداد میکروب‌های روده را تحت تأثیر قرار دهد و سبب افزایش رشد، کاهش تلفات و بهبود ضریب تبدیل غذایی گردد. اسیدهای آلی از طریق 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). اطلاعات موجود در مورد اثرات مفید جیره‌های حاوی اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها بر کارایی رشد در ماهیان متفاوت بوده و به‌نظر می‌رسد به عواملی هم‌چون گونه ماهیان، اندازه و سن ماهیان، نوع و سطوح اسیدهای آلی و نمک‌هایشان و یا ترکیب آن‌ها بستگی دارد. هم‌چنین ترکیبات جیره‌های آزمایشی، ظرفیت بافری مواد تشکیل‌دهنده جیره، مدیریت پرورش و تغذیه و کیفیت آب از دیگر عوامل مؤثر می‌باشند (Lim و همکاران، ۲۰۰۰). مطالعات نشان می‌دهد که اسیدهای آلی به‌عنوان ترکیبات مقرون به‌صرفه و با خاصیت بهبود عملکرد بدن و خواص ضدمیکروبی، گزینه‌ای مطمئن درصنعت خوراک آبزیان می‌باشد(Hayek و همکاران، ۲۰۱۳؛ Raftari، ۲۰۰۹؛ Skrivanova و همکاران، ۲۰۰۶). اثرات مثبت استفاده از اسیدهای آلی در جیره آبزیان به جهت کنترل بیماری و بهبود عملکرد رشد در گربه ماهی (*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، ۲۰۰۹)، سیم دریایی (*Pagrus major*) (Hossain و همکاران، ۲۰۰۷) و کپور روهو (*Labeo rohita*)(Baruah و همکاران، ۲۰۰۷ a,b) گزارش شده است.

در مطالعه حاضر میزان گلوکز در سه تیمار دارای مکمل اسیدی فایر کاهش معنی‌داری با گروه شاهد در روز ۳۰ نشان داد. افزایش گلوکز خون یکی از پیامدهای اصلی ترشح کاتکولامین‌ها و هورمون‌های کورتیکواستروئیدی است که در حیوانات قرار داده شده در شرایط استرس معمول است. در تحقیق حاضر ۳۰ روز تغذیه با سطوح مختلف اسیدی‌فایر در بچه‌ماهیان آزاد،احتمالاً باعث کاهش فعالیت آنزیم گلوکز ۶-فسفاتاز در کبد، کاهش شکست گلیکوژن کبدی و سنتز گلوکز از پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه خارج کبدی شده است. اما در روز ۶۰ آزمایش افزایش گلوکز خون در دو گروه ۱ و ۱/۵ درصد ممکن است نشان‌دهنده اختلال متابولیسم کربوهیدرات به‌واسطه افزایش تجزیه گلیکوژن کبدی باشد که احتمالاًتوسط هورمون‌های آدرنوکوتیکوتروپیک و گلوکاگون و کاهش فعالیت انسولین صورت گرفته است. با این‌حال با توجه به کمبود اطلاعات و تحقیقات کافی در زمینه اثرات نمک اسیدهای آلی بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون مانند گلوکز تحقیقات بیش‌تری را در آینده می‌طلبد. کاهش سطح کلسترول در ماهی‌های تحت تیمار اسدی‌فایر نیم درصد در روز ۳۰ و تیمار یک درصد در روز ۶۰ مطالعه حاضر ممکن است مربوط به تأثیرات منفی یا مثبت اسیدی‌فایر و مدت زمان مصرف در مقدار غلظت مناسب اسیدی‌فایر بر سنتز، جذب و متابولیسم کلسترول باشد. براساس مطالعات پیشین، پروبیوتیک‌ها باکاهش کلسترول سرم،پروفیل چربی را بهبود می‌بخشند (Kavitha و همکاران، ۲۰۱۶). تأثیر عملکرد اسیدی‌فایرها ممکن است به‌صورت غیرمستقیم (افزایش باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک) بر فعالیت آنزیم HMG CoA ردوکتاز نسبت داده شود که نقش مهمی در بیوسنتز کلسترول دارد که در این زمینه بایستی تحقیقات بیش‌تری صورت گیرد. وجود اسیدهای چرب کوتاه زنجیره حاصل از تخمیر کربوهیدرات‌هانیز ممکن است متعاقباً موجب کاهش مقادیر سیستمیک لیپیدهای خونی از طریق مهار سنتز کلسترول کبدی و یا انتشار مجدد کلسترول از پلاسما به کبد گردد و در کاهش کلسترول در تیمارهای آزمایشی نسبت به گروه شاهد، مؤثر باشد (Djousse و همکاران، ۲۰۰۳؛ Fahimi و همکاران، ۲۰۱۱). باکتری‌های پروبیوتیک به‌ویژه باکتری‌های تولیدکننده اسیدلاکتیک می‌توانند در جذب مستقیم کلسترول در روده از طریق عدم اتصال نمک‌های صفراوی دخالت کنند (Ooi و Liong ۲۰۱۰). افزایش سطح تری‌گلیسرید در ماهی‌های تحت تیمار اسدی‌فایر نیم و ۱/۵ درصد در روز ۶۰ و کاهش میزان آن در تیمار یک درصد در روز ۶۰ مطالعه حاضر ممکن است به‌دلایل وجود اسیدهای چرب کوتاه زنجیره حاصل از تخمیر کربوهیدرات‌ها در تیمارهای نیم و ۱/۵ درصد باشد.

برخلاف نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه Saei و همکاران (۲۰۱۶) که اثر BioAcid Ultra بر روی بچه‌ماهی قزل‌آلا رنگین‌کمان

(DOI): 10.22034/aej.2020.117621

را بررسی کردند، نشان داده شد که این اسیدی‌فایر هیچ تاثیری بر پروتئین کل سرم، گلوکز، تری‌گلیسیرید و کلسترول ندارد، احتمالاً دلیل این اختلاف را می‌توان به تفاوت در نوع اسیدی‌فایر مورد بررسی نسبت داد.

نتایج مربوط به فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز نشان داد که مقدار آن در تیمار اسیدی‌فایر نیم درصد بعد از ۳۰ روز نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($p<۰/۰۵$). بعد از ۶۰ روز مقدار آن در گروه ۱/۵ درصد نسبت به شروع آزمایش و روز ۳۰ افزایش معنی‌داری داشته است ($p<۰/۰۵$). کاهش یا عدم افزایش سطح فعالیت آنزیم‌ها در پلاسمای ماهی‌ها ممکن است ناشی از تأثیر مثبت اسیدی‌فایرها در غلظت‌های مختلف و در مدت زمان مناسب بر عملکرد فیزیولوژیکی غشای سلول‌ها در بافت‌های مختلف به‌ویژه بافت کبد باشد (Kumar و همکاران، ۲۰۱۷). ثابت ماندن سطح آنزیم‌های پلاسمایی کبدی در این مطالعه ممکن است بیانگر عملکرد پایدار کبد و سیستم صفراوی در طی آزمایش باشد. هرچند با شروع تغذیه و ۶۰ روز تغذیه با غلظت بالای اسیدی‌فایر با یک افزایش محسوسی در تیمار ۱/۵ درصد مشاهده شد که این افزایش احتمالاً ناشی از شرایط استرسی مخازن پرورشی و غلظت بالای مکمل اسیدی‌فایر در این تحقیق می‌باشد. LDH می‌تواند در کاهش ذخایر گلیکوژنی و پیرو آن، افزایش غلظت گلوکز خون موثر باشد، اما نظر به این‌که تنها در تیمار ۱/۵ درصد اسیدی‌فایر در روز ۶۰ افزایش داشته است، می‌توان این‌چنین ارزیابی نمود که ماهیان این تیمار تحت تنش استرسی قرار داشتند (Reda و همکاران، ۲۰۱۶).

چندین مطالعه بر روی بررسی استرس اکسیداتیو و تأثیرات مکمل‌های غذای بر بافت‌های مختلف ماهی انجام شده است. در این خصوص،سنجش بیومارکرهای رایج استرس اکسیداتیو به‌عنوان روشی معتبر برای ارزیابی عوامل تأیید شده است. اسیدی‌فایرها وضعیت استرس اکسیداتیو را در موجودات بهبود می‌بخشند و با افزایش فعالیت ضداکسیداتیو ضدمیکروبی خطر عفونی شدن را در موجودات کاهش می‌دهند (Mikelsaar و Zilmer، ۲۰۰۹). با افزایش احتمال حضور پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش به‌دنبال استفاده از اسیدی‌فایر، شاخص‌های استرس در خون کاهش می‌یابد، این ممکن است به‌علت اثرات ضداسترسی پروبیوتیک موجود در جیره غذایی باشد که با بهبود مکانیسم دفاع آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش شاخص‌های استرس در خون می‌شود (Rahayu و همکاران، ۲۰۱۳). درشرایط فیزیولوژیکی طبیعی، سلول‌های حیوانی انواع اکسیژن فعال را تولید می‌نمایند که هم‌زمان با آن مکانیسم های دفاع آنتی‌اکسیدانی در بدن تشکیل می‌گردد (Wei و همکاران، ۲۰۱۱). عدم تعادل بین تولید و حذف اکسیژن فعال منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌های ماهی شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپر اکسیدازدیسموتاز و مالون دی‌آلدئید است (Martinez Alvarez و همکاران، ۲۰۰۵). سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی ابزار مفیدی برای تعیین وضعیت آنتی‌اکسیدانی و تشخیص استرس اکسیداتیو در مایعات و بافت بدن ماهی می‌باشد (Wei و همکاران، ۲۰۱۱). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از غلظت‌های مختلف اسیدی‌فایر در جیره غذایی ماهی آزاد دریای خزر منجر به عدم افزایش معنی‌دار فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و کاهش معنی‌دار فعالیت مالون دی آلدهید در پلاسما شد. SOD آنزیمی است که واجد نقش در دیسموتاسیون آنیون سوپراکسید به هیدروژن پراکسید در شرایط استرس‌زا می‌باشد. میزان SOD در مطالعه حاضر تغییر معنی‌داری در میان تیمارها نشان نداد. Weifen و همکاران (۲۰۱۲) افزایش میزان SOD را در سرم ماهی کپور علف‌خوار تغذیه شده با باکتری باسیلوس مشاهده کردند که مخالف نتایج حاضر بود. SUN و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی میزان SOD در ماهی هامور معمولی تغییر معنی‌داری را مشاهده نکردند. عدم وجود اکسیژن فعال واکنش احتمالاً می‌تواند ناشی از عملکرد باکتری‌کشی پایین سرم باشد یا این‌که به‌واسطه برهمنکش اسیدی‌فایر به‌منظور افزایش فعالیت باکتری‌کشی فاگوسیت‌ها سطح آنیون سوپراکسید ثابت مانده و یا تبدیل آن به اکسیژن یگانه (O_2) و رادیکال هیدروکسیل اتفاق افتاده باشد. علاوه بر این هیدروژن پراکسید نیز می‌تواند موجب مهار فعالیت آنزیم SOD و القای فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز شود که در نهایت منجر به عدم تغییر در میزان SOD شده است. هم‌سو با مطالعه نتایج حاضر، در تحقیق Shen و همکاران (۲۰۱۰) افزودن باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* به‌عنوان مکمل غذایی در جیره میگو *لیتوپنئوس وانامی* موجب کاهش سطح MDA و عدم تغییر در مقادیر کاتالاز و SOD شد. در این مطالعه مشخص شد که افزایش مقادیر آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی در ارتباط با خنثی‌سازی گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و پیشگیری از آسیب خودی و پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد (Shen و همکاران، ۲۰۱۰). مقایسه تغییرات مربوط به سطح کاتالاز نشان داد که استفاده از مکمل غذایی اسیدی‌فایر در میزان نیم درصد در جیره غذایی ماهی آزاد می‌تواند سبب افزایش سطح فعالیت کاتالاز گردد ولی در مقایسه با گروه شاهد، تغییرات معنی‌داری را نشان نداد ($p>۰/۰۵$). با این‌حال نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که به‌نظر می‌رسد فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیم درصد اسیدی‌فایر می‌تواند بیش‌تر به‌علت افزایش سطح فعالیت کاتالاز باشد که منجر به خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد. علاوه بر این، Zhu و همکاران (۲۰۱۴) در یک مطالعه ۸ هفته‌ای اثرات ترکیب SCFA (اسید فوماریک و اسید بنزوئیک و ۲-هیدروکسی ۴- (متیلیوتیو) اسید

(DOI): 10.22034/aej.2020.117621

بوتانوات) را در بچه‌ماهی گربه ماهی زرد (*Pelteobagrus fulvidraco*) مورد بررسی قرار دادند که میزان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز کاهش داشته است. هم‌چنین ایشان اعلام نمودند که اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه قادر به محافظت سلول‌های بدن ماهی در برابر آسیب اکسیداتیو هستند. در میان پاسخ‌های استرسی، MDA در گروه ۱ درصد در روزهای ۳۰ و ۶۰ کاهش نشان داد که می‌تواند به نقش اسیدی‌فایر به‌عنوان ارتقاء دهنده دفاع آنتی‌اکسیدانی در غلظت مورد نظر مربوط باشد. لازم به توضیح است که در غلظت ۱/۵ درصد نیز در روز ۶۰ با کاهش میزان MDA مواجه شدیم. این فرآیند نشان‌دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپیدی است که منجر به القاء ترشح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و حذف رادیکال‌های اضافی می‌شود.

با توجه به یافته‌های حاصل از این تحقیق می‌توان گفت اسیدی فایر دی فرمات سدیم در ترکیب با جیره غذایی در ماهی آزاد دریای خزر منجر به بهبود نسبی فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیسمی در ۳۰ روز اول شده است. با توجه به عدم وجود گزارشات مستند در مورد تاثیر اسیدی‌فایر در آزادماهیان در شرایط پرورش، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تیمارهای اسیدی‌فایر تاثیر معنی‌دار در فاکتور بیوشیمایی و دفاع آنتی‌اکسیدانی ماهی آزاد تا ۳۰ روز اول از خود نشان داده‌اند اما در ۳۰ روز دوم آزمایش نتایج برعکس بود. با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش و تاثیر معنی‌دار غلظت‌های اسیدی‌فایر به‌خصوص تیمار ۱/۵ و یک درصد در ۳۰ روز اول، این مکمل‌ها در بازه زمانی کوتاه مدت برای این گونه ارزشمند می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد و نیز پیشنهاد می‌شود که این مکمل‌ها در بازه زمانی کوتاه مدت برای این گونه ارزشمند مورد استفاده قرار گیرد و در مورد اثرات استفاده از مکمل‌های اسیدی‌فایر-پروبیوتیک، بررسی‌های تخصصی صورت گیرد.

منابع

۱. **Alexandratos, N. and Bruinsma, J., 2012.** World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. ESA Working paper FAO, Rome. pp: 4-98.

۲. **Arthur, R.I.; Lorenzen, K.; Homekingkeo, P.; Sidavong, K.; Sengvilaikham, B. and Garaway, C.J., 2010.** Assessing impacts of introduced aquaculture species on native fish communities: Nile tilapia and major carps in SE Asian freshwaters. Aquaculture. Vol. 299, pp: 81-88.

۳. **Baruah, K.; Pal, A.K.; Sahu, N.P.; Debnath, D.; Yengkokpam, S.; Norouzitallab, P. and Sorgeloos, P., 2009.** Dietary Crude Protein, Citric Acid and Microbial Phytase Interacts to Influence the Hemato-Immunological Parameters of Rohu, *Labeo Rohita*, Juveniles. Journal of the World Aquaculture Society. Vol. 40, No. 6, pp: 824-831.

۴. **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.

۵. **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.

۶. **Cabello, F.C., 2006.** Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. Environmental Microbiology. Vol. 8, pp: 1137-1144.

۷. **Canibe, N.; Steien, S.; Overland, M. and Jensen, B.B., 2001.** Effect of K-diformate in starter diets on acidity, microbiota, and the amount of organic acids in the digestive tract of piglets, and on gastric alterations. Journal of Animal Science. Vol. 79, pp: 2123-2133.

۸. **Casewell, M.; Friis, C.; Marco, E.; McMullin, P. and Phillips, I., 2003.** The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Vol. 52, No. 2, pp: 159-161.

۹. **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.

۱۰. **Denev, S.; Staykov, Y.; Moutafchieva, R. and Beev, G., 2009.** Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of probiotics and prebiotics in finfish aquaculture. International Aquatic Research. Vol. 1, pp: 1-29.

۱۱. **Djousse, L.; Hunt, S.C. and Arnett, D.K., 2003.** Dietary linoleic acid is inversely associated with plasma triacylglycerol: the national heart, lung, and blood institute family heart study. The American journal of clinical nutrition. Vol. 78, pp: 1098-1102.

۱۲. **Eidelsburger, O., 1998.** In recent advances in nutrition. Nottingham University press, Nottingham. pp: 93-106.

۱۳. **Ellman, G.L., 1959.** Tissue sulfhydryl groups. Archives of Biochemistry and Biophysics.Vol. 82, pp: 70-77.

۱۴. **Fahimi, Z.; Cheraghi, J.; Pilehvarian, A.A.; Sayehmiri, K. and Khosravi, A., 2011.** Effects of *Alcea angulata* root alcoholic extract on blood ipid of male rabbit. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences. Vol. 20, No. 2, pp: 23-32.

۱۵. **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.

۱۶. **Frisch, S. and Murray, S., 2002.** The diversity and availability of Caulerpa species found in retail aquarium outlets in southern California, USA. Journal of Phycology. Vol. 38, pp: 1-11.

۱۷. **Gormaz, J.G.; Fry, J.P.; Erazo, M. and Love, D.C., 2014.** Public health perspectives on aquaculture. Current Environmental Health Reports. Vol. 1, pp: 227-238.

۱۸. **Hassaan, M.S.; Wafa, M.A.; Soltan, M.A.; Goda, A.S. and Mogheth, N.M.A., 2014.** Effect of dietary organic salts on growth, nutrient digestibility, mineral absorption and some biochemical indices of Nile tilapia; *Oreochromis niloticus* L. fingerlings. *Oreochromis niloticus*. pp.47-55.

۱۹. **Hayek, S.A.; Gyawali, R. and Ibrahim, S.A., 2013.** Antimicrobial Natural Products. Microbial pathogens and

(DOI): 10.22034/aej.2020.117621

۲۰. **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.

۲۱. **Johnson, A.M., 1999.** Low levels of plasma proteins: malnutrition or inflammation? Clinical chemistry and laboratory medicine. Vol. 37, No. 2, pp: 91-96.

۲۲. **Kalantarian, S.H.; Mirzargar, S.S.; Rahmati-Holasoo, H.; Sadeghinezhad, J. and Mohammadian, T., 2019.** Effects of oral administration of acidifier and probiotic on growth performance, digestive enzymes activities and intestinal histomorphology in *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877). Iranian Journal of Fisheries Sciences. DOI: 10.22092/ijfs.2019.119077.

۲۳. **Kalbasi, M.R.; Dorafshan, S.; Tavakolian, T.; Khazab, M. and Abdolhay, H., 2006.** Karyological analysis of endangered Caspian salmon, *Salmo trutta caspius*. Aquaculture Research. Vol. 37, pp: 1341-1347.

۲۴. **Kav, K. and Erganis, O., 2008.** Antibiotic fusceptibility of Lactococcus garvieae in rainbow trout (*Oncorhyncus mykiss*) Farms. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy. Vol. 52, pp: 223-226.

۲۵. **Kavitha, K.; Reddy, A.G.; Reddy, K.K.; Kumar, C.S.; Boobalan, G. and Jayakanth, K., 2016.** Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant effects of pioglitazone, insulin and synbiotic in diabetic rats. Veterinary World. Vol. 9, No. 2, pp: 118-121.

۲۶. **Khajepour, F.; Hosseini, S.A. and MaHoseini, S., 2011.** Studyon some hematological and biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed citric acid supplemented diet. Global Veterinaria. Vol. 7, pp: 361-364.

۲۷. **Kim, Y.; Kil, D.; Oh, H. and Han, I.K., 2005.** Acidifier as an alternative material to antibiotics in animal feed. Asian Australasian Journal of Animal Sciences. Vol. 18, pp: 1048.

۲۸. **Kocabaş, M. and Başçinar, N., 2013.** The effect of salinity on spotting features of Salmo trutta abanticus, S. trutta fario and S. trutta labrax of cultured brown trout. Iranian Journal of Fisheries Sciences. Vol. 12, No. 3, pp: 723-732.

۲۹. **Koroluk M.; Ivanova, L. and Maiorova, I., 1988.** The method of definition of the activeness of catalase. Laboratorial work. pp: 16-19.

۳۰. **Kumar, P.; Jain, K.; Sardar, P.; Sahu, N. and Gupta, S., 2017.** Dietary supplementation of acidifier: effect on growth performance and haemato-biochemical parameters in the diet of *Cirrhinus mrigala* juvenile. Aquaculture international. Vol. 25, pp:2101-2116.

۳۱. **Latha, M. and Pari, L., 2003.** Preventive effects of *Cassia auriculata* L. flowers on brain lipid peroxidation in rats treated with streptozotocin. Molecular and Cellular Biochemistry. Vol. 243, pp: 23-28.

۳۲. **Lim, C.; Klesius, P.H.; Li, M.H. and Robinson, E.H., 2000.** Interaction between dietary levels of iron and Vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. Aquaculture. Vol. 185, pp: 313-327.

۳۳. **Lim, C.; Klesius, P.H. and Lückstädt, C., 2010,** May. Effects of dietary levels of potassium diformate on growth, feed utilization and resistance to *Streptococcus iniae* of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. In 14th International Symposium on Fish Nutrition and Feeding. Qingdao, China. 472 p.

۳۴. **Liu, Y.G., 2001.** Using organic acids to control salmonella in poultry production. Common wealth Veterinary Congress, October 10, pp: 1-4.

۳۵. **Luckstadt, C., 2008.** The use of acidifiers in fish nutrition. Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources. Vol. 3, No. 044, pp: 1-8.

۳۶. **Malone, L.J., 2000.** Basic concepts of chemistry, 6th edition. Wiley Inter Science. 639 p.

۳۷. **Martínez-Álvarez, R.M.; Morales, A.E. and Sanz, A., 2005.** Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. Reviews in Fish Biology and fisheries. Vol. 15, No. 1-2, pp: 75-88.

۳۸. **Mikelsaar, M. and Zilmer, M., 2009.** *Lactobacillus fermentum* ME-3–an antimicrobial and antioxidative probiotic. Microbial ecology in health and disease. Vol. 21, No. 1, pp: 1-27.

۳۹. **Mohammadian, T.; Alishahi, M.; Tabandeh, M.R.; Ghorbanpoor, M.; Gharibi, D.; Tollabi, M. and Rohanizade, S., 2016.** Probiotic effects of *Lactobacillus plantarum* and *L. delbrueckii* ssp. *bulguricus* on some immune-related parameters in Barbus grypus. Aquaculture international. Vol. 24, No. 1, pp: 225-242.

۴۰. **Moss, D.W. and Henderson, A.R., 1999.** Clinical enzymology. In: Burtis, C.A. and Ashwood, E.R., (Eds.), Tietz Textbook of Clinical Chemistry, third ed. W.B Saunders Company, Philadelphia. pp: 617-721.

۴۱. **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.

۴۲. **Niksirat, H. and Abdoli, A., 2009.** On the status of the critically endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius*, during recent decades in the southern Caspian Sea basin (Osteichthyes: Salmonidae). Zoology in the Middle East. Vol. 46, pp: 55-60.

۴۳. **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.

۴۴. **Ooi, L.G. and Liong, M.T., 2010.** Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: a review of in vivo and in vitro findings. International Journal ofMolecular Sciences. Vol. 11, pp: 2499-2522.

۴۵. **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. Vol. 147.

۴۶. **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.

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

۴۸. **Peixoto, F.P.; Carrola, J.; Coimbra, A.M.; Fernandes, C.; Teixeira, P.; Coelho, L.; Conceição, I.; Oliveira, M.M. and Fontainhas-Fernandes, A., 2013.** Oxidative stress responses and histological hepatic alterations in barbel, *Barbus bocagei*, from Vizela River, Portugal. Revista Internacional de Contaminacion Ambiental. Vol. 29, No. 1, pp: 29-38.

۴۹. **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.

(DOI): 10.22034/aej.2020.117621

۵۰. **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.

۵۱. **Rahayu, W.P.; Astawan, M.; Wresdiyati, T. and Mariska, S., 2013.** Antidiarrheal and antioxidative capability of synbiotic yogurt to the rats. International Food Research Journal. Vol. 20, No. 2.

۵۲. **Reda, R.M.; Mahmoud, R.; Selim, K.M. and El-Araby, I.E., 2016.** Effects of dietary acidifiers on growth, hematology, immune response and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish and shellfish immunology. Vol. 50, pp: 255-262.

۵۳. **Rifai, N.; Bachorik, P.S. and Albers, J.J., 1999.** Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company. pp: 809-861.

۵۴. **Sacks, D.B., 1999.** Carbohydrates. Burtis, C.A. and Ashwood, E.R., (Eds). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd edition. Philadelphia: W.B Saunders Company. pp: 750-808.

۵۵. **Saei, M.M.; Beiranvand, K.; Taee, H.M. and Nekoubin, H., 2016.** Effects of different levels of BioAcid Ultra on growth performance, survival, hematologichal and biochemical parameters of fingerlings rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research and development. Vol. 7, No. 455, pp: 2.

۵۶. **Saint-Paul, U., 2018.** Native fish species boosting Brazilian's aquaculture development. Acta of Fisheries and Aquatic Resources. Vol. 5, pp: 1-9.

۵۷. **Shen, W.Y.; Fu, L.L.; Li, W.F. and Zhu, Y.R., 2010.** Effect of dietary supplementation with Bacillus subtilis on the growth, performance, immune response and antioxidant activities of the shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture Research. Vol. 41, No. 11, pp: 1691-1698.

۵۸. **Skinner, J.T. and Walder, P., 1991.** Fumaric and propionic acids enhances performance of broiler chickens. Poultry Science. Vol. 70, pp: 1444-1447.

۵۹. **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.

۶۰. **Sun, Y.Z.; Yang, H.L.; Ma, R.L. and Lin, W.Y., 2010.** Probiotic applications of two dominant gut Bacillus strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper Epinephelus coioides. Fish & shellfish immunology. Vol. 29, No. 5, pp: 803-809.

۶۱. **Wei, L.S.; Wee, W.; Siong, J.Y.F. and Syamsumir, D.F., 2011.** Characterization of anticancer, antimicrobial, antioxidant properties and chemical compositions of *Peperomia pellucida* leaf extract. Acta Medica Iranica. pp: 670-674.

۶۲. **Weifen, L.; Xiaoping, Z.; Wenhui, S.; Bin, D.; Quan, L.; Luoqin, F.; Jiajia, Z. and Dongyou, Y., 2012.** Effects of Bacillus preparations on immunity and antioxidant activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). Fish physiology and biochemistry. Vol. 38, No. 6, pp: 1585-1592.

۶۳. **Xie, S.; Zhang, L. and Wand, D., 2003.** Effects of several organic acids on the feeding behavior of *Tilapia nilotica*. Journal of Applied Ichthyology. Vol. 19, pp: 255- 257.

۶۴. **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. Vol. 291, pp: 89-94.

۶۵. **Zhu, Y.; Qiu, X.; Ding, Q.; Duan, M. and Wang, C., 2014.** Combined effects of dietary phytase and organic acid on growth and phosphorus utilization of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. Aquaculture. Vol. 430, pp: 1-8.

(DOI): 10.22034/aej.2020.117621

Scientific Research Journal of Animal Environment Vol. 12, No. 3, Autumn 2020

The effect of different concentrations of sodium di-formate on serum biochemical and antioxidant indices in *Salmo trutta caspius*

- **Hossien Momeni:** Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
- **Mehrzad mesbah:** Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
- **Takavar Mohammadian*:** Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
- **Mohammad Reza Tabandeh:** Department of Basic science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
- **Mohammad Khosravi:** Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: August 2019 Accepted: November 2019

Keyword: Short-chain fatty acids, Salmo trutta caspius, Sodium diformate, Biochemical indices, Antioxidant enzymes

Abstract

Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) is one of the nine subspecies of brown trout in the world and is one of the economically and endangered species of Iran. This study aimed to investigate the effect of sodium diformate as an acidifier on biochemical and antioxidant indices in Caspian salmon. For this purpose, the Caspian brown trout fries (*salmo trutta caspius*) that weight 13±0.05 gr were recruiting for 60 days by employing four diets consisting of levels of zero (control), 0.5, 1 and 1.5 percent with 3 repeats and blood sampling was done at the beginning of the experiment, day 30 and after the end of the test. Biochemical methods were used to determine the activity of catalase, superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) enzymes, as well as triglyceride, cholesterol, LDH lactate dihydrogenase and glucose levels. The results showed that the amount of glucose in the first day of all treatments significantly differed from the control group. The amount of serum cholesterol on 30 days of the 0.5% treatment and 60 days of the 1% treatment was significantly decreased in contrast with the control. The triglyceride concentration in all of the groups except the 1% treatment was higher than the beginning of the experiment. Besides, there were significant differences between 0 and 30 days and on day 60 of 0.5 and 1.5% treatments. LDH enzyme level was significantly decreased on day 60 of the 1% treatment when compared to control group. Serum catalase level was not significantly different from the control group on day 60. SOD level after 60 days was not significant compared to the control group. The amount of malondialdehyde (MDA) activity on days 30 and 60 of the 1 and on day 60 of the 1.5% treatment was significantly different from control. The results of this study showed that the acidifier treatments (1% and 1.5%) had a significant effect on the biochemical factor and antioxidant defense of brown trout caspius for the first 30 days but in the second 30 days the results were the opposite.



* Corresponding Author's email: tak.mohammadian@gmail.com