

# اثرات اسید پروپیونیک خوراکی بر شاخص‌های رشد و مقاومت در برابر استرس شوری در کلمه خزری (*Rutilus caspicus*)

محمد مازندرانی<sup>۱\*</sup>، محمد سوداگر<sup>۱</sup>، ولی اله جعفری<sup>۱</sup>، علی جافرنوده<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 تنش 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  $10 \pm 1/78$  گرم در ۲۱ مخزن با ابعاد  $1/5 \times 1/5$  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)، ۰/۵، ۱ و ۲ 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 تنش شوری غیر کشنده با میزان ۱۰ ppt قرار گرفتند. سپس جهت سنجش میزان گلوکوز و کورتیزول به عنوان شاخص استرس عملیات خون‌گیری در ۶ بازه زمان شامل: قبل از تنش شوری، بلافاصله پس از تنش شوری، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تنش 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، بازماندگی، استرس شوری

## مقدمه

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-ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی و غیره مورد بررسی‌های متعدد قرار گرفته است. اسیدهای آلی به ترکیباتی اطلاق می‌گردند که شامل زنجیره‌های هیدروکربنی بلند و یا کوتاه زنجیره باشد که خاصیت ضدباکتریایی، 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 بوتیریک، 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 فرار (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 راستا می‌توان به بررسی اثرات مهار کنندگی اسید پروپیونیک بر باکتری *Escherichia coli* در پودر ماهی (Malicki et al., 2004)، اثر رژیم غذایی حاوی بوتیرات سدیم و پروپیونات سدیم بر بهبود فاکتورهای رشد، کارایی غذا و فلور باکتریایی روده در میگوی وانامی (*Litopenaeus vannamei*) (Da Silva et al., 2013)، و نیز اثر عناصر غذایی بر فعالیت ضد قارچ اسید پروپیونیک در محیط آزمایشگاهی اشاره کرد (Dixon and Hamilton, 1981).

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

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 به‌نظر 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 اسید پروپیونیک خوراکی 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 آبزی‌پروری شهید ناصر فضلی‌برآبادی دانشکده شیلات در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. برای انجام این تحقیق، ابتدا تعداد ۵۰۰ قطعه بچه ماهی کلمه خزری با میانگین وزنی  $10 \pm 1/78$  گرم از مرکز تکثیر و پرورش ماهیان استخوانی سیجوال 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 ۳٪ 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 ۶۰ لیتری منتقل شدند (۱۵ قطعه ماهی در هر مخزن)؛ سپس، به‌منظور بررسی اثرات تغذیه‌ای اسید پروپیونیک در جیره غذایی، سه گروه تیمار با میزان ۰/۵، ۱ و ۲٪ اسید پروپیونیک به ازای کیلوگرم جیره‌ی غذایی، و یک گروه شاهد (با جیره پایه) با سه تکرار در نظر گرفته شد. غذادهی روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن به مدت ۲ ماه صورت گرفت. برای تعیین شاخص‌های رشد بچه ماهیان، هر دو هفته یکبار زیست‌سنجی انجام شد. به‌علاوه، در پایان دوره شاخص‌های رشد بررسی و تغییرات رشد در طی این دوره طبق فرمول‌های زیر محاسبه گردید (Turchini et al., 2013):

محاسبه شاخص‌های رشد:

(۱) افزایش وزن بدن ( $WG^1$ ):

$$BWI = Wt_2 - Wt_1$$

گرم وزن اولیه ماهی =  $Wt_1$ ، گرم وزن نهایی ماهی =  $Wt_2$ (۲) درصد افزایش وزن بدن ( $WGP^2$ ):

$$WGP = (Wt_2 - Wt_1) / Wt_1 \times 100$$

گرم وزن اولیه ماهی =  $Wt_1$ ، گرم وزن نهایی ماهی =  $Wt_2$ (۳) نرخ رشد ویژه ( $SGR^3$ ):

$$SGR (\% / day) = [(LnWt_2 - LnWt_1) / t_2 - t_1] \times 100$$

لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی =  $LnWt_1$ ، لگاریتم طبیعینهایی ماهی =  $LnWt_2$ ، طول دوره آزمایش =  $t_2 - t_1$ 

محاسبه شاخص‌های تغذیه‌ای

(۴) فاکتور وضعیت ( $CF^4$ ):

$$Condition Factor = Wt_2 / (FL)^3$$

وزن نهایی ماهیان (گرم) =  $Wt_2$ ، طول نهایی ماهیان (سانتی -متر) =  $FL$ 

(۵) درصد زنده‌مانی (Survival rate):

$$Survival rate = (N_t - N_0) \times 100$$

تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش =  $N_t$ ، تعداد ماهیان درانتهای دوره آزمایش =  $N_0$ 

تنش شوری غیرکشنده و فرآیند خون‌گیری: پس از

گذشت ۶۰ روز از شروع آزمایش، بچه ماهیان جهت بررسی

اثرات تغذیه‌ای اسید پروپونیک روی شاخص‌های استرسی در

مواجهه با شوری غیرکشنده، به مدت ۱۲ ساعت تحت تنش

شوری ۱۰ ppt قرار داده شدند و پس از آن مجدداً به حالت

اول برگردانیده شدند. همچنین، برای انجام بررسی‌های

سرولوژی، طی ۶ دوره زمانی خون‌گیری صورت گرفت که این

تقسیم‌بندی زمانی شامل: قبل از تنش شوری (خون‌گیری

اول)، بلافاصله پس از تنش شوری (خون‌گیری دوم)، ۱۲

ساعت پس از تنش شوری (خون‌گیری سوم)، ۲۴ ساعت پس

از تنش شوری (خون‌گیری چهارم)، ۴۸ ساعت پس از تنش

شوری (خون‌گیری پنجم) و ۷۲ ساعت پس از تنش شوری

(خون‌گیری ششم) می‌شد. خون‌گیری بدین صورت انجام

گردید که در هر کدام از دوره‌های مذکور، تعداد ۷ قطعه ماهی

از هر تیمار به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی آغشته به هیپارین از ساقه دمی خون‌گیری شد و پس از انتقال نمونه‌های خون به تیوپ‌های ۱/۵ سی‌سی توسط سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰) پلاسمای خون از بقیه اجزای خون جدا و توسط سمپلر به تیوپ‌هایی که مشخصات مربوط به هر گروه توسط بر چسب روی آن نصب شده بود، منتقل گردید. دمای تعریف شده برای انجام این آزمایش، ۲۰- سانتی‌گراد ثبت گردید.

#### اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون: شاخص‌های

بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در این آزمایش شامل: کورتیزول و گلوکز بود. که گلوکز با استفاده از کیت تجاری پارس آزمون و با دستگاه اسپکتروفتومتری (Biochrom, libra S12) و براساس دستورالعمل داخل کیت‌ها اندازه‌گیری شد. همچنین، کورتیزول نیز با استفاده از کیت تجاری IBL و با دستگاه الایزا (مدل UNISCO 2100) اندازه‌گیری گردید.

#### مقاومت و زنده‌مانی بچه ماهیان کلمه خزری در

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

#### وضعیت فیزیکی و بیوشیمیایی آب پرورش: جهت هوادهی

محیط پرورشی، در هر یک از مخازن هوادهی ملایمی از طریق سنگ هوای متصل به کمپرسور مرکزی صورت می‌گرفت. برای جلوگیری از آلودگی محیط پرورش، ضایعات غذایی و مدفوع، سیفون مخازن یکبار در روز انجام می‌شد. فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب شامل: دما، pH، اکسیژن محلول و شوری آب به صورت روزانه اندازه‌گیری و به ترتیب  $24 \pm 0.4$ ،  $8 \pm 0.2$ ،  $6/1 \pm 0/1$  (میلی گرم در لیتر)، ppt  $0/1$  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 داده‌ها به روش

آنالیز واریانس یک‌طرفه ۵ انجام شد. جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید و اختلاف بین میانگین‌ها در تیمارهای مختلف با سطح اطمینان ۹۵٪ تعیین شد. برای عملیات آماری از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ استفاده شد. تمامی داده‌ها براساس میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شدند.

<sup>5</sup>. ANOVA

<sup>1</sup> Weight gain

<sup>2</sup> Weight growth percent

<sup>3</sup> Specific growth rate

<sup>4</sup> Feed conversion ratio

## نتایج

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

وزن انتهایی 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 به‌طور 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 ( $p > 0.05$ ).

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

| شاخص‌های رشد                        | ۲٪ اسید پروپیونیک   | ۱٪ اسید پروپیونیک  | ۰.۵٪ اسید پروپیونیک | گروه شاهد          |
|-------------------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| میانگین وزن ابتدای دوره (گرم)       | $10.55 \pm 0.82^a$  | $11.04 \pm 1.38^a$ | $10.52 \pm 2.85^a$  | $10.97 \pm 1.26^a$ |
| میانگین وزن انتهایی دوره (گرم)      | $15.10 \pm 2.39^a$  | $12.50 \pm 1.36^b$ | $13.11 \pm 1.85^b$  | $13.65 \pm 1.20^a$ |
| میانگین طول انتهایی دوره (سانتیمتر) | $11.39 \pm 0.63^a$  | $10.90 \pm 0.35^b$ | $11.14 \pm 0.45^a$  | $10.91 \pm 0.63^b$ |
| افزایش وزن بدن (گرم)                | $4.55 \pm 1.15^a$   | $1.47 \pm 0.10^b$  | $2.59 \pm 0.81^b$   | $2.68 \pm 0.17^b$  |
| درصد افزایش وزن بدن                 | $46.06 \pm 10.07^a$ | $13.30 \pm 1.02^b$ | $24.64 \pm 7.83^b$  | $24.41 \pm 1.43^b$ |
| نرخ رشد ویژه (درصد در روز)          | $0.26 \pm 0.05^a$   | $0.09 \pm 0.01^b$  | $0.16 \pm 0.05^b$   | $0.16 \pm 0.01^b$  |
| شاخص وضعیت                          | $1.02 \pm 0.02^a$   | $0.97 \pm 0.02^b$  | $0.95 \pm 0.02^b$   | $1.05 \pm 0.03^a$  |
| نرخ بقا (درصد)                      | $100^a$             | $100^a$            | $100^a$             | $100^a$            |

حروف انگلیسی در هر ردیف، نشانه تفاوت معنادار در سطح ۰.۰۵ است. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار است

زنده‌مانی ماهیان تغذیه شده با اسید پروپیونیک در مواجهه با تنش 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 تنش شوری

جدول ۲: تغییرات کورتیزول خون بچه ماهیان کلمه خزری تغذیه شده با سطوح مختلف اسید پروپیونیک تحت تنش شوری ۱۰ ppt

| کورتیزول            | تیمار ۱               | تیمار ۲               | تیمار ۳               | تیمار ۴                |
|---------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| قبل از تنش          | $16.71 \pm 2.21^{aE}$ | $16.81 \pm 3.33^{aE}$ | $18.34 \pm 3.64^{aD}$ | $15.44 \pm 3.42^{aE}$  |
| بلافاصله بعد از تنش | $64.51 \pm 4.33^{bA}$ | $79.14 \pm 3.24^{aA}$ | $78.02 \pm 4.21^{aA}$ | $82.21 \pm 3.81^{aA}$  |
| ۱۲ ساعت بعد از تنش  | $54.13 \pm 3.33^{bB}$ | $72.28 \pm 4.29^{aA}$ | $66.81 \pm 2.63^{aA}$ | $74.04 \pm 3.28^{aB}$  |
| ۲۴ ساعت بعد از تنش  | $34.64 \pm 2.22^{cC}$ | $56.04 \pm 4.61^{aB}$ | $48.04 \pm 2.58^{bB}$ | $55.03 \pm 3.91^{aC}$  |
| ۴۸ ساعت بعد از تنش  | $28.01 \pm 2.68^{bD}$ | $40.42 \pm 4.68^{aC}$ | $38.82 \pm 4.15^{aC}$ | $29.91 \pm 4.31^{bD}$  |
| ۷۲ ساعت بعد از تنش  | $28.94 \pm 3.44^{bD}$ | $31.06 \pm 4.34^{bD}$ | $40.23 \pm 3.58^{aC}$ | $33.45 \pm 4.25^{abD}$ |

حروف انگلیسی بزرگ غیرمشابه در هر ردیف و حروف انگلیسی کوچک غیرمشابه در هر ستون و حروف انگلیسی کوچک در هر ردیف، بیانگر اختلاف معنادار در سطح ۰.۰۵ است. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار است.

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

بر اساس نتایج حاصل از جدول ۲ مقادیر گلوکز در ماهیان گروه شاهد قبل از تنش شوری در مقایسه با ماهیانی که با سطوح مختلف اسید پروپیونیک تغذیه شدند به‌طور معنی داری بالاتر بود. مقادیر گلوکز بلافاصله پس از تنش شوری در ماهیان گروه شاهد از سایر گروه‌های تیمار بالاتر ثبت شد. با این‌حال، در بررسی ۱۲ ساعت پس از تنش شوری مقادیر گلوکز در تمامی گروه‌های مورد بررسی فاقد اختلاف معنی‌دار

جدول ۳: تغییرات گلوکز خون بچه ماهیان کلمه خزری تغذیه شده با سطوح مختلف اسید پروپیونیک تحت تنش شوری ۱۰ ppt

| گلوکز               | تیمار ۱                      | تیمار ۲                     | تیمار ۳                      | تیمار ۴                     |
|---------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| قبل از تنش          | ۱۲۸/۴۴±۱۴/۲۳ <sup>a BC</sup> | ۹۲/۴۱±۱۵/۳۲ <sup>b C</sup>  | ۸۸/۱۸±۱۷/۱۶ <sup>b D</sup>   | ۹۶/۸۵±۱۹/۲۵ <sup>ab D</sup> |
| بلافاصله بعد از تنش | ۳۴۲/۸۸±۲۶/۶۴ <sup>a A</sup>  | ۳۳۰/۸۱±۱۱/۶۸ <sup>a A</sup> | ۲۳۸/۶۱±۱۴/۶۱ <sup>b A</sup>  | ۲۶۳/۲۰±۱۴/۲۸ <sup>b A</sup> |
| ۱۲ ساعت بعد از تنش  | ۱۴۷/۶۲±۱۱/۶۴ <sup>a B</sup>  | ۱۷۸/۵۸±۲۲/۴۳ <sup>a B</sup> | ۱۷۳/۸۷±۲۸/۱۱ <sup>a B</sup>  | ۱۶۶/۲۳±۱۸/۵۱ <sup>a B</sup> |
| ۲۴ ساعت بعد از تنش  | ۱۵۳/۴۱±۱۲/۲۶ <sup>a B</sup>  | ۱۷۷/۳۹±۱۹/۴۴ <sup>a B</sup> | ۱۵۵/۱۳±۱۸/۲۴ <sup>a B</sup>  | ۱۶۴/۸۱±۱۶/۳۳ <sup>a B</sup> |
| ۴۸ ساعت بعد از تنش  | ۱۴۸/۴۳±۱۶/۱۶ <sup>a B</sup>  | ۱۱۸/۱۳±۱۲/۱۶ <sup>b C</sup> | ۱۲۴/۷۵±۱۲/۶۷ <sup>ab C</sup> | ۱۳۲/۸۴±۱۴/۸۲ <sup>a C</sup> |
| ۷۲ ساعت بعد از تنش  | ۹۸/۸۴±۱۵/۶۳ <sup>a C</sup>   | ۹۱/۲۱±۱۲/۳۱ <sup>a C</sup>  | ۱۰۷/۸۸±۱۶/۵۸ <sup>a D</sup>  | ۹۳/۵۴±۱۷/۸۱ <sup>a D</sup>  |

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

## بحث

امروزه آبی‌پروری 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 ۰/۵ تا ۲ درصد، نه تنها عملکرد رشد را بهبود بخشید، بلکه سبب بروز اثرات منفی بر شاخص‌های رشد گردید. به‌طوری که در برخی تیمارها حتی به میزان ۳ 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)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) (Pandey and Satoh, 2008)، هیبرید تیلپیا (*Oreochromis niloticus*) (Ng et al., 2009)؛ Zhou 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 پرزهای روده گردیده است.

به‌علاوه، 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

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 فعال‌سازی پپسین 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 باکتریایی 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 تیلپیا قرمز (*Oreochromis sp*) باعث افزایش مقاومت گروه‌های تیمار در برابر بیماری‌زایی باکتری *Streptococcus agalatae* 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 بعید به نظر می‌رسد که افزودن اسید آلی (اسید پروپیونیک) در جیره غذایی این ماهیان سبب کاهش ایمنی بدنی آن‌ها شده باشد اما به دلیل اسیدی‌تر 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 تأمین نمایند. این موضوع تا حدی در بررسی مقادیر کورتیزول و گلوکز در شرایط پس از مواجهه قابل مشاهده است. چنان‌چه، سطح کورتیزول بعد از تنش شوری در مقایسه با گروه شاهد به‌طور معنی‌دار بالاتر ثبت شد و با گذشت زمان‌های پس از تنش نسبت به گروه

شاهد روند کاهشی کندتری داشت اما وضعیت گلوکز سرم خون با این روند هم‌خوانی کامل نداشت به‌طوری‌که میزان گلوکز قبل از مواجهه شوری در ماهیان شاهد نسبت به ماهیان تغذیه شده با اسیدهای آلی بالاتر بود و بلافاصله پس از تنش 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 این که سطح کورتیزول بالاتری داشتند کمتر افزایش نشان داد.

به‌طور 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 تعمیم‌پذیر 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

- Propionic acid 1, 2. Poultry Science, 60(11), 2407-2411.
- Eidelsburger, U., 1997.** Optimierung der Futterqualität nurein Teilaspekt. 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., Bruzewicz, S., Graczyk, S. and Czernski, 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.