تغــذیه آبزیــان
سال پنجم، شماره دوم،
پاییز و زمستان ۱۳۹۸

اثر اسیدی فایر سدیم دی فرمات (NDF) و اسید سیتریک بر ترکیب بیوشیمیایی بدن، فعالیت آنزیم‌های سرمی و بافت دستگاه گوارش ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

مرضیه دوستانی دزفولی[۱]، ابراهیم رجب زاده قطرمی[۲*]، رحیم عبدی[۳]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، خوزستان
۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، خوزستان
۳- گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خوزستان

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۴/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۱۱

چکیده
مطالعه حاضر به ارزیابی اثرات سطوح اسیدی فایر سدیم دی‌فرمات و اسید سیتریک بر ترکیب بدن، فعالیت آنزیم‌های سرمی و بافت دستگاه گوارش در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) می‌پردازد. تعداد ۶۳۰ قطعه ماهی (میانگین وزن ۰/۷۲ ± ۱۶/۵۵ گرم) به طور تصادفی در ۲۱ مخزن (۳۰ ماهی در هر مخزن) توزیع شدند. آزمایش به مدت ۶۰ روز در هفت تیمار آزمایشی شامل شاهد (فقط غذای تجاری FFT2)، سه سطح ۰/۲٪ (تیمار A)، ۰/۴٪ (تیمار B) و ۰/۶٪ (تیمار C) سدیم دی فرمات در جیره به تنهایی و سه سطح در ترکیب با اسید سیتریک به میزان ۰/۱٪ (تیمار D)، ۰/۲٪ (تیمارE) و ۰/۳٪ (تیمارF) که به جیره پایه غذای تجاری FFT2 افزوده شدند، انجام شد. ماهی‌ها ۳ بار در روز در ساعات ۸، ۱۲ و ۱۶ و به میزان ۲٪ وزن بدن به مدت ۲ ماه غذادهی شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که سطوح مختلف سدیم دی فرمات و اسید سیتریک در جیره غذایی تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های سرمی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در مقایسه با تیمار کنترل نداشت ($p>0/05$)، ولی تفاوت معنی‌داری بر میزان پروتئین، خاکستر و رطوبت ترکیب بدن در بین گروه‌های آزمایشی نشان داد ($p<0/05$). بیشترین میزان ارتفاع و عرض پرز، تعداد سلول‌های موکوسی، ضخامت لایه سروزی روده، ضخامت پارین و زیرمخاط روده و ضخامت لایه عضلانی در تیمار D مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با دیگر تیمارها نشان داد ($p<0/05$) و کمترین میزان شاخص‌های مذکور در گروه شاهد ثبت شد. بر اساس نتایج این مطالعه، افزودن ۰/۱٪ سدیم دی فرمات و ۰/۱٪ اسید سیتریک به جیره غذایی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان، به علت بهبود شاخص‌های ترکیب بدن شامل افزایش پروتئین و خاکستر و بهبود شاخص‌های بافتی روده ممکن است مفید واقع شود.

کلمات کلیدی: ترکیبات اسیدی فایر، ترکیب بیوشیمیایی بدن، آنزیم های سرمی، بافت دستگاه گوارش، ماهی قزل‌آلای رنگین-کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

نویسنده مسئول: rajabzadeh48@gmail.com

مقدمه

با توجه به وضعیت صید در جهان، که عمده ذخایر ماهیان بهره‌برداری شده‌اند و هیچ توان بالقوه‌ای برای افزایش تولید ندارند، نیازهای آینده برای محصولات دریایی و شیلات تنها می‌تواند با گسترش تولیدات آبزی‌پروری برآورده شود. آبزی‌پروری به‌شدت و به‌طور قابل ملاحظه‌ای به مواد مغذی که به عنوان خوراک برای تولید مؤثر آبزیان پرورشی استفاده می‌شوند، وابسته است. یکی از راهبردها برای بهبود عملکرد و سلامت ماهیان، استفاده از مکمل‌های غذایی مانند اسیدهای آمینه، آنتی‌بیوتیک‌ها و اسیدهای آلی برای تولید غذاهای مؤثر (جیره‌های مؤثر) است (Castillo et al. 2014).

افزودنی‌های غذایی اجزای غیرمغذی هستند که در فرموله کردن جیره برای تأثیرگذاری بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خوراک، در جهت بهبود عملکرد آبزیان در نظر گرفته می‌شوند (NRC, 2011). استفاده از پیش برنده‌های رشد آنتی‌بیوتیکی (AGPs)[1] در تغذیه ماهی رشد، تبدیل غذایی و نرخ بقای آنها را بهبود می‌بخشد. با وجود این، آنتی بیوتیک‌های مذکور باعث ایجاد مقاومت در برابر فلور میکروبی می‌شوند که ممکن است منجر به ایجاد مقاومت در بین انسان‌ها شوند. بنابراین، محققان روی افزودنی‌های جایگزین مانند اسیدهای‌آلی، پروبیوتیک‌ها، گیاهان دارویی، آنزیم‌ها و اسانس‌ها تمرکز کرده‌اند، از جمله اسیدهای آلی زنجیره کوتاه و نمک‌هایشان که به دلیل اثرات مفید در نگهداری و حفظ خوراک و به عنوان مکمل غذایی حیوانات توجه خاص محققان را به خود جلب کرده‌اند (Abu Elala and Ragaa, 2014; Mohamadi Saei et al. 2016).

موفقیت استفاده از اسیدهای آلی در عملکرد ماهیان به شدت متغیر است و به عوامل بسیاری از جمله گونه ماهی، سن، انواع و سطوح اسیدهای آلی مورد استفاده بستگی دارد (Tran-Ngoc et al. 2018). اسیدهای آلی، دسته‌ای از ترکیبات کربوکسیل‌دار با ساختار کلی (R-COOH) هستند که با گروه فعال (COOH) که به یک گروه آلی و یا اتم هیدروژن متصل است، از دیگر اسیدها متمایز می‌شوند (Ahmad, 2006). از بین این ترکیبات، آنهایی که بین ۱ تا ۷ اتم کربن دارند، دارای اثرات ضد میکروبی هستند (Eidelsburger, 1998). بسیاری از این ترکیبات به شکل نمک‌های سدیم، پتاسیم و کلسیم در دسترس هستند. مزیت نمک‌ها نسبت به اسیدها این است که عموماً بی بو بوده و در فرآیند ساخت خوراک به علت شکل جامد و فرار بودن کمتر آنها، راحت‌تر به کار برده می‌شوند. خورندگی این ترکیبات نیز کمتر و حلالیت آنها در آب بیشتر است (Huyghebaert et al. 2011).

اسیدهای آلی و نمک‌هایشان می‌توانند به منظور حفظ سلامت و عملکرد حیوان و همچنین، برای کاهش عوامل رشد آنتی بیوتیکی به کار برده شوند. نحوه عمل آن‌ها از جمله تحریک ترشح آنزیم معدی، احتباس و قابلیت هضم مواد مغذی، منجر به بهبود ضریب تبدیل مواد غذایی و افزایش وزن روزانه می‌شوند. مزایای اقتصادی با کاهش هزینه خوراک و زمان کوتاه‌تر برای عرضه محصول به بازار حاصل می‌شود. علاوه بر این، اسیدها و نمک‌ها رشد میکروبی در خوراک و نیز مجرای روده‌ای را کاهش می‌دهند. کاهش کلی میکروفلور روده، نیاز سوخت و سازی و مواد مغذی ایجاد شده توسط باکتری را کاهش می‌دهد که این امر خود موجب بازده بهتر خوراک و بهبود افزایش وزن روزانه می‌شود. در تغذیه حیوانات، اسیدی کننده‌ها از طریق سه روش مختلف تأثیر بر تغذیه، مجرای روده‌ای و سوخت و ساز جانور، اثرات بهبود دهندگی عملکرد خود را اعمال می‌کنند (Lückstadt, 2009). اسیدهای آلی سبب کاهش جمعیت ریزموجودات بیماری‌زا و سموم آنها از طریق جیره توسط آبزی شده و مدت زمان نگهداری خوراک را افزایش می‌دهند. از جمله فعالیت اسیدهای آلی کاهش pH دستگاه گوارش است. این اسیدها به صورت تفکیک نشده از غشای لیپیدی باکتری و قارچ‌ها عبور می‌کنند. در داخل سلول باکتری، تفکیک شده و باعث آزاد شدن یون‌های هیدروژن و بی‌کربنات در سیتوپلاسم سلول شده و با افزایش اسیدیته، سلول باکتری را مجبور می‌کنند تا برای توازن طبیعی اسیدیته، انرژی مصرف کند. از طرف دیگر، یون RCOO نیز موجب توقف یا کاهش ساختن DNA و پروتئین شده و در مجموع، رشد باکتری کاهش می‌یابد. در نتیجه این تغییرات، رشد باکتری‌های بیماری‌زا محدود شده که این پدیده باعث ارتقای سلامت دستگاه گوارش می‌شود. همچنین، اسیدهای آلی باعث تغییر در ریخت‌شناسی دیواره روده و کاهش پرگنه باکتری‌های بیماری‌زا می‌شوند.

[1] Antibiotic Growth Promoter

بنابراین، از تخریب و آسیب سلول‌های پوششی روده جلوگیری می‌کنند (Safamehr et al. 2017).

در مطالعه Abu Elala و Ragaa (۲۰۱۵) جیره غذایی حاوی ۰/۳٪ پتاسیم دی فرمات بهبود معنی‌داری را در مصرف غذا، افزایش وزن، شاخص نرخ رشد و میزان بهره‌وری پروتئین نشان داد، باعث تحریک فلور مفید میکروبی روده شد و مقاومت در برابر بیماری‌ها بسته به میزان پتاسیم دی فرمات جیره افزایش یافت. بنابراین، استفاده از اسیدی فایرها می‌تواند یک ابزار کارآمد برای دستیابی به تولید پایدار، صرفه اقتصادی و ایمنی ماهیان باشد.

اسید سیتریک یک اسید آلی ضعیف است که به عنوان محافظت‌کننده و نگهدارنده طبیعی مواد غذایی محسوب می‌شود و قادر است در ترکیب شدن با مواد معدنی رقابت کند و آن را برای ماهی قابل دسترس کند (Pandy et al. 2008). سدیم دی‌فرمات (NaDF) ترکیبی از اسید فرمیک (HCOOH) و فرمات سدیم (HCOONa) است و به نام FormiNDF شناخته می‌شود که بر باکتری‌های آسیب‌رسان، از جمله سالمونلا که در طول دستگاه گوارش قرار می‌گیرند، مؤثر است (Lückstadt and Theobald, 2009). با توجه به کاربرد اسیدی فایر ها در اثر بخشی جیره غذایی و نیز افزایش مطلوب عملکرد سیستم گوارشی هدف این مطالعه بررسی کاربرد نمک اسید های آلی سدیم دی فرمات (NDF) و اسید سیتریک در جیره استفاده شده و اثر آن بر ترکیبات بیوشیمیایی بدن، فعالیت آنزیم های سرمی و بافت دستگاه گوارشی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش

این پژوهش در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج در تیرماه ۱۳۹۶ به مدت ۶۰ روز انجام شد. بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزن ۰/۷۲ ± ۱۶/۵۵ گرم بعد از طی شدن مرحله سازگاری به مدت یک هفته، به طور تصادفی در بین مخازن ۲۰۰ لیتری فایبرگلاس (۲۱ مخزن) در قالب هفت گروه در سه تکرار و هر تکرار ۳۰ عدد ماهی تقسیم شدند. تأمین آب مخازن از طریق آب چشمه در محل با میانگین دمای ۰/۷ ± ۱۰/۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۳ ± ۷ میلی‌گرم در لیتر، سختی ۲۷ ± ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر و pH ۰/۳ ± ۷/۸ بود و تعویض آب مخازن (جریان دائمی آب) به صورت ثقلی به میزان ۰/۳ لیتر در ثانیه انجام شد. گروه‌های آزمایشی به ترتیب زیر بودند (Castillo et al. 2014):

گروه‌های ۱، ۲ و ۳ ماهیان تغذیه شده با غذای تجاری FFT2 و به ترتیب با ۰/۲٪، ۰/۴٪ و ۰/۶٪ سدیم دی فرمات؛

گروه ۴: ماهیان تغذیه شده با غذای تجاری FFT2 با افزودن ۰/۱٪ سدیم دی فرمات و ۰/۱٪ اسید سیتریک؛

گروه ۵: ماهیان تغذیه شده با غذای تجاری FFT2 با افزودن ۰/۲٪ سدیم دی فرمات و ۰/۲٪ اسید سیتریک؛

گروه ۶: ماهیان تغذیه شده با غذای تجاری FFT2 با افزودن ۰/۳٪ سدیم دی فرمات و ۰/۳٪ اسید سیتریک؛ و

گروه شاهد: ماهیان تغذیه شده با غذای تجاری FFT2 بدون اسیدی فایر.

جیره‌های آزمایشی

اسیدی فایرهای مورد نیاز از شرکت مهدامین خریداری و به آزمایشگاه کارخانه ساخت غذای آبزیان فیدرپاتیرا شهرکرد انتقال داده شدند. میزان مصرف اسیدی فایر سدیم دی فرمات (NDF) و اسید سیتریک بر اساس درصدهای تعیین شده به مواد خشک اولیه غذای تجاری (جدول ۱) تولیدی کارخانه (بدون تغییر فرمول) اضافه شدند و بعد از مخلوط کردن مواد اولیه وارد خط تولید کارخانه شدند. جیره‌های آزمایشی و غذای تجاری به صورت اکسترود در این شرکت تولید شدند.

به منظور سازش‌پذیری ماهی‌ها، همه گروه‌ها یک هفته با غذای گروه شاهد تغذیه و در طی این مدت از نظر سلامتی بررسی شدند. همچنین، پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب به صورت روزانه بررسی شدند. غذادهی ماهی‌ها در سه نوبت در ساعات ۸، ۱۲ و ۱۶ به میزان ۲٪ درصد وزن بدن (به منظور یکسان بودن میزان غذا در همه تیمارها و بررسی تأثیر اسیدی فایرها از حد سیری اجتناب شد) در روز به صورت دستی انجام شد. برای توزین غذا، از ترازوی دیجیتال استفاده شد. ماهیان در ابتدا و انتهای دوره و همچنین، دو بار در طول دوره آزمایش زیست‌سنجی شدند.

جدول ۱ ترکیبات جیره مورد استفاده در آزمایش (تهیه شده از شرکت فیدرپاتیرا، شهرکرد، ایران).

ترکیب	درصد
پروتئین خام	۴۰-۴۴
چربی خام	۱۲-۱۶
فیبر خام	۲-۴
خاکستر	۷-۱۱
فسفر	۱-۲
رطوبت	۵-۱۱

اندازه‌گیری ترکیبات لاشه

برای بررسی ترکیب بیوشیمیایی بدن ماهیان، نمونه‌برداری در انتهای آزمایش انجام شد. برای تعیین میزان رطوبت، هر ماهی به‌طور جداگانه توزین و در داخل پتری‌دیش قرار گرفت. سپس در داخل آون (Heraeus, Hanau D-63450, Germany)، در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت پتری دیش‌ها از آون خارج و دوباره وزن شدند. با محاسبه اختلاف وزن به دست آمده، درصد رطوبت تعیین شد. برای تعیین میزان خاکستر نمونه‌ها، از کوره الکتریکی استفاده شد. ابتدا بوته‌های چینی (کروزه) خالی در آون با دمای ۱۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه قرار داده شد و پس از سرد شدن در دسیکاتور، توزین شدند. سپس، مقدار ۰/۵ گرم از نمونه (که قبلاً در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفته بودند) در بوته‌های چینی ریخته شدند و سپس، وزن بوته‌ها همراه با نمونه اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت سوزانده شدند. سپس، به مدت ۳۰ دقیقه درون دسیکاتور سرد شدند و بعد از آن، با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شدند. درصد خاکستر نمونه‌ها از طریق رابطه زیر محاسبه شد (AOAC, 1995):

۱۰۰ × (وزن نمونه اولیه/وزن بوته چینی– وزن بوته همراه با نمونه نهایی) = درصد خاکستر

پروتئین کل با استفاده از دستگاه کلدال اتوماتیک (Autokjeldahl Unit K-370, BUCHI, Sweden) با ضرب میزان نیتروژن به دست آمده در عدد ۶/۲۵ محاسبه شد. همچنین، چربی کل ماهیان نیز با دستگاه FOSS (Soxtec 2050, Sweden) اندازه‌گیری شد.

سنجش فعالیت آنزیمی

به منظور بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های سرمی آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، کراتین فسفاتاز (CPK) و لاکتات دهیدروژناز (LDH)، در پایان دوره پرورش تعداد ۶ ماهی از هر تیمار به صورت تصادفی صید و پس از بیهوش کردن با محلول پودر گل میخک (۲۰۰ ppm)، از ساقه دمی آنها با استفاده از سرنگ‌های حاوی ماده ضد انعقاد هپارین خون‌گیری انجام شد. خون به دست آمده به اپندورف‌های ۲ میلی‌لیتری ریخته و پس از آن با دستگاه میکروسانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه، سانتریفیوژ شد. در نهایت، پلاسما از خون سانتریفیوژ شده جدا و تا انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

بررسی‌های بافتی

برای بررسی‌های بافتی، ابتدا ماهیان را با زدن ضربه‌ای به سر آسان‌کشی کرده و قسمت‌هایی از روده را جدا و سپس در بافر فرمالین ۱۵٪ درصد نگهداری شدند. برای تهیه مقاطع بافتی ابتدا بافت‌های مورد نظر با استفاده از الکل سریالی صعودی آبگیری شدند، در پارافین قرار گرفتند و برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. سپس با استفاده از رنگ هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی شدند. با میکروسکوپ نوری و نرم‌افزار Dino Capture بررسی انجام شد و تغییرات ثبت شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. ارزیابی نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogrov-Smirnov) انجام شد. داده‌ها به کمک آنالیز واریانس یک طرفه (One-Wey ANOVA) تجزیه و تحلیل شدند. همچنین، برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) با درصد خطای ۵٪ استفاده شد. کلیه داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد گزارش شدند.

نتایج

نتایج سنجش تقریبی درصد ترکیبات بیوشیمیایی لاشه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سدیم دی فرمات و اسید سیتریک در جدول ۲ ارائه شده است. میزان پروتئین، خاکستر و رطوبت بدن بین تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان داد (p<۰/۰۵). بیشترین میزان پروتئین و خاکستر در تیمار D که از ترکیب سدیم دی فرمات و اسید سیتریک اسید به میزان برابر ۰/۱ مصرف کردند، مشاهده شد. از نظر میزان چربی بین تیمار شاهد و دیگر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

جدول ۲ مقادیر ترکیب شیمیایی بدن در قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره‌های حاوی اسیدی فایر طی ۶۰ روز.

تیمار / شاخص	پروتئین (٪)	چربی (٪)	خاکستر (٪)	رطوبت (٪)
تیمار شاهد	۷۳/۸۶ ± ۰/۲۸^{abc}	۸/۱۶ ± ۰/۰۴	۱۱/۲۸ ± ۰/۱۹^{b}	۷۲/۸۷ ± ۰/۴۱^{ab}
تیمار A	۷۳/۳۷ ± ۰/۰۹^{c}	۸/۱۵ ± ۰/۰۸	۱۰/۴۸ ± ۰/۲۱^{bcd}	۷۲/۱۷ ± ۰/۲۰^{abc}
تیمار B	۷۴/۰۵ ± ۰/۱۷^{abc}	۸/۳۵ ± ۰/۰۵	۹/۵۵ ± ۰/۳۲^{d}	۷۱/۷۲ ± ۰/۲۷^{c}
تیمار C	۷۴/۲۶ ± ۰/۲۳^{ab}	۸/۱۲ ± ۰/۰۸	۱۰/۵۱ ± ۰/۶۸^{bcd}	۷۳/۲۴ ± ۰/۴۸^{a}
تیمار D	۷۴/۵۰ ± ۰/۱۹^{a}	۸/۱۰ ± ۰/۲۰	۱۲/۲۹ ± ۰/۲۶^{a}	۷۱/۸۴ ± ۰/۱۵^{bc}
تیمار E	۷۳/۶۱ ± ۰/۲۰^{bc}	۸/۱۸ ± ۰/۰۵	۱۰/۰۷ ± ۰/۱۵^{cd}	۷۲/۳۱ ± ۰/۳۳^{abc}
تیمار F	۷۴/۰۰ ± ۰/۳۶^{abc}	۸/۰۹ ± ۰/۰۸	۱۰/۸۳ ± ۰/۲۷^{bc}	۷۲/۳۱ ± ۰/۳۶^{abc}

* اعداد با حروف متفاوت اختلاف معنی دار آماری دارند (p<۰/۰۵).

نتایج میانگین‌های به دست آمده از سنجش آنزیم‌های سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با سطوح مختلف سدیم دی فرمات و اسید سیتریک در جدول ۳ ارائه شده است. تجزیه و تحلیل‌های آماری داده ها نشان داد که میزان AST، ALT، CPK و LDH هیچ اختلاف معنی‌داری در بین تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد نداشت (p>۰/۰۵). بر اساس جدول ۳، با افزایش سطوح سدیم دی فرمات و اسید سیتریک در جیره یک روند نامنظم در مقادیر آنزیم‌های سرمی در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد.

جدول ۳ فعالیت آنزیم‌های سرمی در قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره‌های حاوی اسیدی فایر طی ۶۰ روز.

تیمار / شاخص	AST (U/mg protein)	ALT (U/mg protein)	CPK (U/mg protein)	LDH (U/mg protein)
تیمار شاهد	۶۰۹/۵۰ ± ۹۱/۶۸	۱۳/۵۰ ± ۲/۱۴	۴۱۹۸/۶۶ ± ۲۰۰/۵۸	۱۴۱۴/۶۶ ± ۱۶۷/۳۸
تیمار A	۵۶۹/۶۶ ± ۵/۱۸	۱۶/۰۰ ± ۱/۸۲	۳۲۰۰/۵۰ ± ۴۳/۰۱	۱۴۲۴/۶۶ ± ۶/۰۲
تیمار B	۴۹۲/۱۶ ± ۵۷/۷۱	۱۳/۶۶ ± ۴/۲۷	۳۸۸۷/۳۳ ± ۴۳۳/۹۳	۱۲۰۲/۰۰ ± ۱۶۴/۲۱
تیمار C	۴۹۷/ ±۸۳ ۵۶/۹۸	۱۸/۰۰ ± ۱/۲۹	۴۲۳۹/۹۱ ± ۵۰۶/۰۸	۱۵۴۲/۱۶ ± ۱۴۹/۹۴
تیمار D	۵۸۳/۰۸ ± ۵۷/۷۲	۱۳/۰۰ ± ۳/۲۱	۴۰۳۶/۸۳ ± ۷۱۱/۴۹	۱۴۴۲/۸۳ ± ۱۰۵/۲۴
تیمار E	۵۶۱/۵۰ ± ۸۹/۹۵	۱۳/۸۳ ± ۲/۸۶	۴۵۵۱/۰۰ ± ۲۲۹/۳۹	۱۴۵۸/۳۳ ± ۱۷۰/۹۶
تیمار F	۶۴۱/۰۸ ± ۸۴/۴۹	۱۵/۵۰ ± ۲/۰۲	۳۷۰۹/۶۶ ± ۱۹۰/۶۵	۱۵۳۵/۸۳ ± ۶۱/۹۴

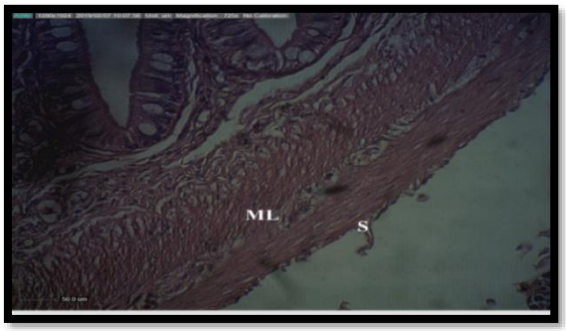
بر اساس نتایج بررسی‌های بافتی، همه تیمارهای آزمایشی مورد مطالعه از لحاظ ارتفاع و عرض پرز، تعداد سلول‌های موکوسی، ضخامت لایه سروزی، ضخامت پارین و زیر مخاط و ضخامت لایه عضلانی روده (شکل‌های ۱ و ۲) با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۴؛ $p<۰/۰۵$). بیشترین مقادیر برای تمام شاخص‌ها در تیمار D که شامل غذای تجاری و ۰/۱٪ سدیم دی فرمات و ۰/۱٪ اسید سیتریک بود مشاهده شد که به لحاظ آماری، اختلاف معنی‌داری با دیگر تیمارها داشت ($p<۰/۰۵$). کمترین مقدار در شاخص‌های مذکور، در تیمار شاهد که فقط شامل غذای تجاری بود، مشاهده و ثبت شد.

جدول ۴ تغییرات بافت روده در قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره‌های حاوی اسیدی فایر طی ۶۰ روز.

تیمار	ارتفاع پرز (µm)	عرض پرز (µm)	تعداد سلول‌های موکوسی روده	ضخامت لایه سروزی روده (µm)	ضخامت پارین و زیرمخاط روده (µm)	ضخامت لایه عضلانی روده (µm)
شاهد	۴۲/۴۴ ± ۱/۲۵^{c}	۷/۴۴ ± ۰/۱۹^{c}	۴ ± ۰/۷۰^{e}	۱/۴۶ ± ۰/۱۶^{d}	۱۸/۹۲ ± ۰/۵۵^{f}	۳۴/۷۶ ± ۰/۳۹^{e}
تیمار A	۵۱/۳۶ ± ۰/۳۹^{cd}	۷/۴۸ ± ۰/۲۳^{c}	۶/۲۰ ± ۰/۳۷^{cd}	۲/۲۸ ± ۰/۱۳^{c}	۳۰/۶۲ ± ۰/۲۲^{d}	۴۳/۰۶ ± ۰/۴۳^{c}
تیمار B	۵۴/۱۲ ± ۰/۱۲^{b}	۹/۳۴ ± ۰/۲۱^{b}	۹ ± ۰/۳۱^{b}	۳/۳۴ ± ۰/۱۳^{b}	۳۵/۸۲ ± ۰/۳۴^{b}	۴۵/۱۶ ± ۰/۴۸^{b}
تیمار C	۵۰/۱۶ ± ۰/۱۲^{d}	۷/۳۴ ± ۰/۱۹^{c}	۵ ± ۰/۷۰^{de}	۳/۳۶ ± ۰/۲۲^{c}	۲۸/۵۸ ± ۰/۳۵^{e}	۴۱/۷۰ ± ۰/۲۵^{d}
تیمار D	۶۰/۷۴ ± ۰/۳۶^{a}	۱۱/۰۰ ± ۰/۲۸^{a}	۱۲/۸۰ ± ۰/۸۰^{a}	۴/۴۲ ± ۰/۱۲^{a}	۴۰/۱۴ ± ۰/۶۴^{a}	۴۹/۱۰ ± ۰/۴۵^{a}
تیمار E	۵۲/۸۲ ± ۰/۲۳^{bc}	۸/۷۴ ± ۰/۲۴^{b}	۸ ± ۰/۳۱^{bc}	۲/۶۸ ± ۰/۱۷^{c}	۳۳/۶۸ ± ۰/۲۴^{c}	۴۳/۹۶ ± ۰/۲۹^{c}
تیمار F	۵۲/۱۸ ± ۰/۲۹^{c}	۷/۹۰ ± ۰/۱۵^{c}	۷ ± ۰/۷۰^{c}	۲/۴۰ ± ۰/۰۸^{c}	۳۳/۰۴ ± ۰/۳۲^{c}	۴۳/۷۸ ± ۰/۳۷^{c}

* اعداد با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار آماری دارند ($p<۰/۰۵$).

شکل ۱ پرز روده به همراه سلول موکوسی (M)، پارین و زیر مخاط (PS) روده قزل آلای رنگین کمان تیمار D (H & E stain, × 725 Original magnification).



شکل ۲ پرز روده به همراه لایه عضلانی (ML) و لایه سروزی (S) روده قزل آلای رنگین کمان تیمار شاهد (H & E stain, × 725 Original magnification).

بحث

در حال حاضر، اسیدی‌فایرها به عنوان گزینه‌ای امیدوارکننده برای کاهش میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌های بهبود دهنده رشد در نظر گرفته می‌شوند (Lückstadt, 2009). اسیدی‌فایرها از طریق کاهش pH روده و کاهش توان بالقوه تکثیر و ازدیاد ریزموجودات نامطلوب، در جهت بهبود عملکرد رشد عمل می‌کنند. اسیدی‌سازی روده موجب تحریک فعالیت آنزیم‌ها می‌شود و هضم و جذب عناصر مغذی و مواد معدنی را بهینه می‌سازد (Lückstadt, 2009). اعتقاد بر این است که عامل رشد در ماهیان تغذیه شده با اسیدهای آلی با افزایش و تقویت قابلیت هضم مواد معدنی و مغذی افزایش می‌یابد (Omosowone et al. 2015).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از سطوح مختلف سدیم دی فرمات و اسید سیتریک تأثیر متفاوتی بر ترکیبات بدن ماهی دارد. در این تحقیق ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۱٪ سدیم دی فرمات و اسید سیتریک، بالاترین مقدار پروتئین و خاکستر را نشان دادند که احتمالاً به دلیل افزایش قابلیت هضم و تثبیت پروتئین در این تیمار بوده است. در مطالعه Reda و همکاران (۲۰۱۶) با افزایش مقدار اسیدی فایرها در جیره ماهیان تیلاپیا *Oreochromis niloticus* میزان پروتئین و چربی بدن نیز افزایش یافت؛ در میزان خاکستر تفاوت ناچیزی بین تیمارها وجود داشت و محتوای کل رطوبت بدن از مکمل اسید فایر تأثیر نپذیرفت. این نتایج فقط در میزان پروتئین بدن با مطالعه حاضر همخوانی داشت. در نتایج بررسی Agouz و همکاران (۲۰۱۵) نیز با افزودن ترکیب نمک‌های آلی لاکتات کلسیم و استات سدیم (۱:۱) به میزان ۰/۵٪ به جیره غذایی ماهیان تیلاپیای نیل، بیشترین مقدار پروتئین و خاکستر و کمترین میزان چربی در ترکیبات بدن مشاهده شد، در صورتی که گروه شاهد کمترین میزان پروتئین و بیشترین مقدار چربی را نشان داد که نشان از رابطه‌ای منفی بین محتوای پروتئین و چربی کل بدن ماهی دارد. نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر همسو است. در همین راستا Baruah و همکاران (۲۰۰۷) اظهار داشتند با افزودن ۳٪ اسید سیتریک به جیره ماهی روهو *Labeo rohita* میزان چربی خام و خاکستر کل بدن به‌طور معنی داری به‌ترتیب با کاهش و افزایش همراه بوده است. مطالعه انجام شده توسط Romano و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که میزان چربی بدن در میگوی وانامی *Litopenaeus vannamei* تغذیه شده با ترکیب اسیدهای آلی، با افزایش سطح اسید آلی در جیره کاهش یافته است. تفاوت ترکیب شیمیایی بدن ماهیان در گونه‌های مختلف و حتی در یک گونه به عواملی از جمله تفاوت در سن، جنس، شرایط محیطی و فصل بستگی دارد، اما بدون شک اختلاف اصلی در ترکیبات بیوشیمیایی ماهی را باید در ارتباط با غذای دریافتی یا تغذیه ماهی و حتی درصد و مقدار غذادهی روزانه دانست (FAO, 2004). عامل دیگری که می‌تواند تأثیر زیادی بر ترکیب شیمیایی بدن ماهی داشته باشد، جیره غذایی است (Du et al. 2005). برخی محققان معتقدند که تفاوت‌ها در ترکیب بیوشیمیایی لاشه ماهیان می‌تواند مربوط به تغییر در تولید پروتئین و چربی در بدن، مقدار ذخیره آنها در بافت‌های بدن و نرخ رشدِ متفاوت باشد (Abdel-Tawwab et al. 2008; Heidarieh et al. 2012). افزایش پروتئین و چربی در بدن ممکن است به دلیل بهبود قابلیت هضم مواد مغذی توسط مکمل اسیدی فایر باشد (Reda et al. 2016). در حال حاضر، در بین اسیدهای آلی، اسید سیتریک و نمک‌های آن بیشتر به عنوان یک مکمل در غذای آبزیان استفاده می‌شود تا به طور بالقوه رشد و مصرف مواد غذایی در ماهی را بهبود بخشد (Romano et al. 2016).

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، میزان فعالیت آنزیم‌های سرمی AST، ALT، CPK و LDH در بین تیمارهای مختلف آزمایشی تفاوت معنی‌دار نشان نداد. همسو با نتایج مطالعه حاضر می‌توان به تحقیقاتی بر ماهی قزل آلای رنگین کمان تغذیه شده با سطوح مختلف بیو اسید اولترا (Mohamadi Saei et al. 2016) و ماهی سی‌باس آسیایی تغذیه شده با مکمل پروبیوتیک (*Lactobacillus plantarum*) (مرشدی و همکاران، ۱۳۹۴) و ماهی تیلاپیا تغذیه شده با مکمل سدیم بوتیرات و بیوژن (Ali et al. 2018) اشاره کرد که هیچ تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیمی (آلکالین فسفاتاز، آلانین ترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز) مشاهده نشد. در همین راستا Dai و همکاران (۲۰۱۸) با مطالعه اثر اسید سیتریک بر ماهی توربوت *Scophthalmus maximus* اعلام کردند که تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت AST و ALT در تیمارهای مختلف وجود ندارد که نشان می‌دهد اسید سیتریک هیچ اثر نامطلوبی بر وضعیت طبیعی کبد ندارد.

Agouz و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که با افزودن اسیدهای آلی (مالیک و اگزالیک اسید) و نمک‌های آلی (کلسیم لاکتات و سدیم استات) به جیره ماهی تیلاپیای نیل اختلاف معنی‌داری در مقادیر ALT مشاهده نشد، ولی برای آنزیم AST در تیمارهای مختلف در مقایسه با شاهد تغییرات معنی‌داری ثبت شد که این نتایج فقط در خصوص ALT با نتایج مطالعه حاضر همسویی دارد. فعالیت آنزیم-های سرمی ALT و AST به عنوان نشانه‌ای از میزان آسیب کبدی در نظر گرفته می‌شود، زیرا سطوح بالای آنزیم‌های سرمی می‌تواند به میزان آسیب‌های کبدی مربوط باشد. Castillo و همکاران (۲۰۱۴) اعلام کردند که نتایج حاصل از تأثیر اسیدهای آلی مختلف بر ماهی *Sciaenops ocellatus* حاکی از افزایش فعالیت آنزیمی است که با نتایج مطالعه حاضر همسویی ندارد. افزایش فعالیت آنزیم‌ها ممکن است اثر غیرمستقیم اسیدهای آلی باشد. میزان فعالیت آنزیم‌ها در بخش‌های مختلف متفاوت است. در برخی موارد، اختلاف بین ساعت نمونه‌برداری (۲ یا ۶ ساعت بعد از غذا) در میزان فعالیت آنزیم‌ها نیز مشاهده شده است. بررسی‌ها حاکی از آن است که شیب‌های مختلف فعالیت آنزیم‌های گوارشی در گونه‌های مشابه ماهیان ممکن است با دیگر گونه‌ها تفاوت داشته باشند (Castillo et al. 2014). آنزیم‌های ALT و AST جزء آنزیم‌های مهم در بررسی وضعیت سلامت ماهیان به حساب می آیند و سلول-های کبدی غنی از این آنزیم‌ها هستند. آنزیم LDH اغلب برای ارزیابی وجود آسیب های بافتی کبد سنجش می‌شود (Racicot et al. 1975).

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، تیمارهای آزمایشی مورد مطالعه از لحاظ ارتفاع پرز، عرض پرز، تعداد سلول‌های موکوسی روده، ضخامت لایه سروزی روده، ضخامت لایه عضلانی و همچنین، ضخامت پارین و زیر مخاط روده با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند. تیمار D با جیره غذایی حاوی ۰/۱٪ سدیم دی فرمات و ۰/۱٪ اسید سیتریک نیز به لحاظ آماری، با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت. کمترین میزان در شاخص‌های مذکور در تیمار شاهد مشاهده و ثبت شد. Huan و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی اثرات نمک اسیدهای آلی و ترکیب آنها با پروتئاز در تغذیه ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) پرداختند. بلندترین ارتفاع پرز در گروه ماهیان تغذیه شده با نمک اسید آلی و پروتئاز نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. به‌رغم اختلاف معنی‌دار در ارتفاع پرز، هیچ تفاوت قابل توجهی در عرض پرز و ضخامت مخاط بین گروه‌ها در مقایسه با شاهد گزارش نشد. این نتایج فقط در خصوص ارتفاع پرز با مطالعه حاضر همخوانی دارد. در مطالعه Tran-Ngoc و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی تأثیر پتاسیم دی فرمات و کلسیم بوتیرات در ماهی تیلاپیای نیل در شرایط محیطی متفاوت پرداخته و گزارش کردند که ماهیان تغذیه شده با مکمل‌های اسید آلی، همگی تحت شرایط اکسیژن نرمال، بهبود ریخت‌شناسی روده را نشان داده‌اند و این اثرات در شرایط هیپوکسی به میزان بیشتری افزایش یافته است. ماهیان تغذیه شده با این مکمل، در طول شرایط هیپوکسی ضخامت کمتری از لایه زیر مخاط و بافت همبند و تعداد کمتری از سلول‌های جامی شکل در روده عقبی را نشان دادند که این بهبود در بافت پوششی روده در مقایسه با ماهیان گروه شاهد می‌باشد. این نتایج با یافته های مطالعه حاضر همسو است. در مطالعه Pirarat و همکاران (۲۰۱۱) تغییرات مربوط به ریخت‌شناسی روده و ایمنی در ماهیان تیلاپیای نیل تغذیه شده با جیره غذایی حاوی *Lactobacillus rhamnosus* بررسی شد و گزارش دادند که پروبیوتیک مورد نظر باعث ارتقای ساختار روده و ایمنی در ماهی تیلاپیا می‌شود. تغذیه با این مکمل باعث افزایش ارتفاع پرزها در تمام قسمت‌های روده و تفاوت معنی‌دار در بخش ابتدایی و میانی روده می‌شود که با نتایج مطالعه حاضر همسویی دارد. Ramos و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه تأثیر پروبیوتیک‌های تجاری بر ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان هیچ تفاوت معنی‌داری را بین تیمارهای مختلف در ارتفاع و تراکم پرزها و تعداد سلول‌های جامی شکل مشاهده نکردند. همچنین، در مطالعه پورامینی و همکاران (۱۳۸۷) بر روی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با مخمر *Saccharomyces cerevisiae* به عنوان پروبیوتیک، Ringo و همکاران (۲۰۰۷) در ماهی آزاد اطلس *Salmo salar* تغذیه شده با سویه پروبیوتیکی *Carnobacterium divergens* گزارش شد که در تمامی تیمارها مقاطع بافتی روده مشابه بوده و تفاوت معنی‌داری نداشتند که با نتایج مطالعه حاضر همسویی ندارد. انرژی اسیدهای آلی به‌طور کامل در سوخت و ساز مصرف می‌شود و سلول‌های پوششی روده می‌توانند از این مواد به عنوان منابع انرژی استفاده کنند. این امر باعث رشد بیشتر سلول-های روده ای (آنتروسیت) می‌شود (Topping and

Clifon, 2001) و در نتیجه، افزایش اندازه ریزپرزهای روده و افزایش سطح جذب و به تبع آن، کارایی بیشتر غذا را به دنبال دارد. Tran-Ngoc و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که هم شرایط غذایی و هم شرایط محیطی بر ریخت-شناسی روده ماهی تأثیر می‌گذارد و اثرات منفی آنها، همدیگر را تقویت می‌کند. توانایی اسیدهای آلی برای تقویت ریخت‌شناسی روده به شدت وابسته به شرایط پرورش است. اثر مکمل‌های اسید آلی زمانی که ماهی‌ها بدون اینکه تحت شرایط استرس‌زا قرار بگیرند، خیلی چشم‌گیر به‌نظر نمی‌رسد، اما هرگاه عوامل استرس‌زای محیطی یا غذایی، باعث ایجاد شرایط پرورشی نامطلوب شوند، اسیدهای آلی تأثیر مثبتی بر ریخت‌شناسی روده می‌گذارند (Tran-Ngoc et al. 2018).

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که افزودن سدیم دی فرمات و اسید سیتریک به جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تا سطح ۰/۱٪ جیره، تأثیر مثبتی بر ترکیب بیوشیمیایی بدن و بافت دستگاه گوارش بدون اثر سوء بر شاخص‌های سرمی و کبدی داشته است و می‌تواند عملکرد رشد و دستگاه گوارش این ماهیان را بهبود بخشد. لذا استفاده از مقادیر مناسب اسیدی فایرها در جیره غذایی ماهیان می تواند به پرورش دهندگان آبزیان کمک شایانی کند.

منابع

پورامینی، م.، کمالی، ا.، حاجی مرادلو، ع.، قربانی، ر.، علیزاده، م. ۱۳۸۷. بررسی تغذیه با مخمر *Saccharomyces cerevisiae* به عنوان پروبیوتیک، بر مقاومت در برابر تنش با شوری و بافت شناسی دستگاه گوارش بچه ماهیان نورس قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله فن‌آوریهای نوین در توسعه آبزی پروری (شیلات) ۲: ۴۰-۳۳.

مرشدی، و.، نفیسی بهابادی، م.، عضدی، م.، مدرسی، م.، چراغی، س. ۱۳۹۴. اثرات پروبیوتیک جیره *Lactobacillus plantarum* بر ترکیب لاشه، برخی شاخص های بیوشیمیایی سرم خون و آنزیم های کبدی ماهی سی باس آسیایی (*Lates calcarifer*, Bloch 1790). مجله علوم و فنون دریایی ۱۴: ۱۴-۱.

Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M., Ismael, N.E.M. 2008. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture 280: 185-189.

Abu Elala, N., Ragaa, N. 2015. Eubiotic effect of a dietary acidifier (potassium diformate) on the health status of cultured *Oreochromis niloticus*. Journal of Advanced Research 6: 621-629.

Agouz, H.M., Soltan, M.A.N., Meshrf, R. 2015. Effect of some organic acids and organic salt blends on growth performance and feed utilization of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*). Egyptian Journal Nutrition and Feeds 18: 443-450.

Ahmad, I. 2006. Effect of probiotics on broilers performance. International Journal of Poultry Science 5: 593-597

Ali, T.E.S., El-Sayed, A.M., Hanafi, H.M., Eissa, M.A.R. 2018. Effects of dietary Biogen and sodium butyrate on hematological characteristics of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Aquaculture International 26: 139-150.

AOAC, 1995. Official Methods of AOAC International. Vol. I. Agricultural Chemicals; Contaminants, Drugs, 16th edition. AOAC International, Arlington, VA, 1298 p.

Baruah, K., Sahu, N.P., Pal, A.K., Debnath, D., Yengkokpam, S., Mukherjee, S.C. 2007. Interactions of dietary microbial phytase, citric acid and crude protein level on mineral utilization by rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), juveniles. Journal of the World Aquaculture Society 38: 238-249

Castillo, S., Rosales, M., Pohlenz, C., Gatlin, D.M. 2014. Effects of organic acids on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile

red drum *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture 433: 6-12.

Dai, J., Li, Y., Yang, P., Liu, Y., Chen, Z., Ou, W., Ai, Q., Zhang, W., Zhang, Y., Mai, K. 2018. Citric acid as a functional supplement in diets for juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* L.: Effects on phosphorus discharge, growth performance, and intestinal health. Aquaculture 495: 643-653.

Du, Z.Y., Liu, Y.J., Tian, L.X., Wang, J.T., Wang, Y. and Liang, G.Y. 2005. Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Aquaculture Nutrition 11: 139-146

Eidelsburger, U. 1998. Feeding short-chain organic acids to pigs. In: In Recent Advances in Animal Nutrition, Garnsworthy, P.C. and J. Wiseman, (Eds.). Nottingham University Press, Nottingham, UK, 93-106.

FAO, 2004. FAO Yearbook of fishery statistics. Vol. 94/1. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 642 p.

Heidarieh, M., Mirvaghefi, A.R., Akbari, M., Farahmand, H., Sheikhzadeh, N., Shahbazfar, A.A., Bagher, M. 2012. Effect of dietary Ergosan on growth performance, digestive enzymes, intestinal histology, hematological parameters and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry 38: 1169-1174.

Huan, D., Li, X., Chowdhury, M.A.K., Yang, H., Liang, G., Leng, X. 2018. Organic acid salts, protease and their combination in fish meal-free diets improved growth, nutrient retention and digestibility of tilapia) *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). Aquaculture Nutrition 24: 1813-1821.

Huyghebaert, G., Ducatelle, R., Immerseel, F.V. 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. Veterinary Journal 187: 182-188.

Khaled, M. 2015. Effect of organic acid salt supplementation on growth performance and feed utilization in practical diets of hybrid tilapia (*O. Niloticu* x *O. aureus*) fingerlings. Egyptian Journal of Animal Production 52: 81-88.

Luckstadt, C. 2009. Acidifiers in Animal Nutrition. Nottingham University Press, 119 p.

Luckstsdt, C., Theobald, P. 2009. Effect of a formic acid-sodium formate premixture on Salmonella, Campylobacter and further gut microbiota in broilers. Proceedings and Abstracts of the 17th European Symposium on Poultry Nutrition, 364 p.

Mohamadi Saei, M., Beiranvand, K., Mansouri Taee, H., Nekoubin, H. 2016. Effects of different levels of BioAcid Ultra on growth performance, survival, hematologichal and biochemical parameters of fingerlings rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Aquaculture Research and Development 7: 1-5

NRC, 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academies Press, Washington, D.C., 376 p.

Omosowone, O., Dada A., Adeparusi, E. 2015. Effects of dietary supplementation of fumaric acid on growth performance of AFRICAN CATFISH *Clarias gariepinus* and *Aeromonas sobria* challenge. Croatian Journal of Fisheries 73: 13-19.

Pandey, A., Satoh, S. 2008. Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Fisheries Science 74: 867-874.

Pirarat, N., Pinpimai, K., Endo, M., Katagiri, T., Ponpornpisit, A., Chansue, N., Maita, M. 2011. Modulation of intestinal morphology and immunity in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. Research in Veterinary Science 91: 92-97.

Racicot, J. G., Gaudet, M., Leray, C. 1975. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with emphasis

on their diagnostic use: study of CC14 toxicity and a case of Aeromonas infection. Journal of Fish Biology 7: 825-835.

Ramos, M.A., Goncalves, J.F., Batista, S., Costas, B., Pires, M.A., Rema, P., Ozorio, R.O. 2015. Growth, immune responses and intestinal morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) supplemented with commercial probiotics. Fish and Shellfish Immunology 45: 19-26.

Reda, R.M., Mahmoud, R., Selim, K.M., 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 50: 255-262.

Romano, N., Koh, C.B., 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.

Romano, N., Simon, W., Ebrahimi, M., Fadel, A.H.I., Chong, C.M., Kamarudin, M.S. 2016. Dietary sodium citrate improved oxidative stability in red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.) but reduced growth, health status, intestinal short chain fatty acids and induced liver damage. Aquaculture 458: 170-176.

Ringo, E., Salinas, I., Olsen, R.E., Nyhaug, A., Myklebust, R., Mayhew, T.M. 2007. Histological changes in intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following in vitro exposure to pathogenic and probiotic bacterial strains. Cell and Tissue Research 328: 109-116

Safamehr, A.R., Chavooshi, F., Nobakht, A. 2017. The effects of *Saturea* and *Thyme* medicinal plants with or without enzyme on performance, blood parameters in broiler chickens. Research on Animal Production 8: 70-78.

Topping, D.L., Clifon, P.M. 2001. Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. Physiological Reviews 81: 1031-1064

Tran-Ngoc, K.T., Dinh, N.T., Nguyen, T.H., Roem, A.J., Schrama, J.W., Verreth, J.A.J. 2016. Interaction between dissolved oxygen concentration and diet composition on growth, digestibility and intestinal health of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 462: 101-108.

Tran-Ngoc, K.T., Huynh, S.T., Sendao, J., Nguyen, T.H., Roem, A.J., Verreth, J.A.J., Schrama, J.W. 2018. Environmental conditions alter the effect of organic acid salts on digestibility and intestinal morphology in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture Nutrition 25: 134-144.

Effects of sodium diformate and citric acid on body composition, serum enzymes activity and alimentary canal tissue of the juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Marzeyeh Dostani Dezfoli[1], Ebrahim Rajabzadeh Ghatrami[2*], Rahim Abdi[3]
1- M.Sc Student of aquaculture, Khorramshahr University of Marine Scince and Technology, Khorramshahr, Khuzistan, Iran
2- Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources. Khorramshahr University of Marine Sciences and Technology, Khorramshahr, Khuzistan, Iran
3- Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science, Khorramshahr University of Marine Sciences and Technology, Khorramshahr, Khuzistan, Iran

Received 04 July 2019; accepted 02 December 2019

Abstract
This study evaluates the effects of different levels of acidifier: Sodium diformate and citric acid on body composition, serum enzymes and the alimentary canal tissue in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). For this purpose, 630 fingerling fish (mean weight: 16.55 ± 0.72 g), were randomly distributed in twenty one 200-L fiberglass tanks (30 fish per tank). This study was performed 60 days with seven experimental treatments: control (only fed with commercial diet: FFT2), three levels of sodium diformate added to diet: 0.2% (treatment A), 0.4% (treatment B), 0.6% (treatment C) and also three levels of sodium diformate in combination with citric acid with an equal rates: 0.1% (treatment D), 0.2% (treatment E) and 0.3% (treatment F). The fish were fed 2 % based of body weight three times daily at 8:00, 12:00 and 16:00 for two months. The results indicated that different levels of sodium diformate and citric acid supplements used had no significant effect on the activity of serum enzymes of rainbow trout in comparison with the control treatment ($p>0.05$); while it had significant effects on the protein, ash and moisture of the body composition among the experimental treatments ($p<0.05$). The maximum height and width of microvilli, the number of goblet cells, the thickness of serous membrane, parin and submucosal layer of intestine along with the thickness of muscle layer were observed in treatment D, which exhibited significant differences with other treatments ($p<0.05$) and the minimum rate of the mentioned factors was recorded in the control treatment. Adding 1% sodium diformate and 1% citric acid to diet of rainbow trout can be useful because of the improving body composition indices, including an increase in protein and ash, as well as improving intestine histological indices.

Keywords: Sodium diformate, Citric acid, Body composition, Serum enzymes, Alimentary canal tissue, *Oncorhynchus mykiss*

Corresponding author: rajabzadeh48@gmail.com