Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

Online ISSN: 2345-427X
Print ISSN: 2345-4288

The effect of formic acid on growth performance, blood and immune parameters of goldfish (*Carassius auratus*)

Reza Nahavandi[1], Saeid Tamadoni Jahromi[2], Ali Sadeghi[3], Sajjad Pormozaffar[*4]

1. Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. E-mail: rezanahavandi91@gmail.com
2. Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran. E-mail: stamadoni@gmail.com
3. Dept. of Fisheries, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: sadeghi.a_shilat@yahoo.com
4. Corresponding Author, Persian Gulf Mollusks Research Station, Persian Gulf and Oman Sea Ecology Research Center, Iranian Fisheries Sciences Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Bandar-e-Lengeh, Iran. E-mail: sajjad5550@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 06.28.2022
Revised: 07.19.2022
Accepted: 08.01.2022

Keywords:
Blood indices,
Formic acid,
Goldfish,
Growth parameters,
Immunity

ABSTRACT

Formic acid is simplest member of carboxylic acid family. The effects of formic acid on growth, blood indices, and immune parameters of goldfish fry were examined over 60 days. The goldfish fries (mean weight of 5.10±0.15 g) were randomly allocated to four experimental treatments with three replications (25 pieces in each replication) including control treatment (no formic acid) and three treatments which received formic acid (10, 20, 30 gr/kilogram diet). The results indicated that growth indices (final weight, weight gain, specific growth rate, condition factor, and FCR) were significantly different between the control and experimental treatments. The final weight, weight gain, specific growth rate, and status index in the formic acid treatments had a significant increase compared to the control group. In addition, adding formic acid to goldfish fry food ration improved blood factors and immunity in the fish. The results of study showed that inclusion of folic acid resulted an increase in hematocrit, hemoglobin, number of red blood cells, number of white blood cells, lysozyme, immunoglobin, and total immunoglobin compared to the control group. In general, adding folic acid to the food of goldfish fry improved growth parameters along with blood and immune parameters. According to obtained results, a diet containing 10 g/kg diet proposed to enhance growth performance and immunity of goldfish.

Cite this article: Nahavandi, Reza, Tamadoni Jahromi, Saeid, Sadeghi, Ali, Pormozaffar, Sajjad. 2023. The effect of formic acid on growth performance, blood and immune parameters of goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 12 (1), 75-85.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2022.20374.1682
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا آنلاین: ۲۳٤٥-٤۲۷X
شاپا چاپی: ۲۳٤٥-٤۲۸۸

تأثیر اسید فرمیک بر عملکرد رشد، شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی بچه‌ماهی قرمز (*Carassius auratus*)

رضا نهاوندی[۱]، سعید تمدنی جهرمی[۲]، علی صادقی[۳]، سجاد پورمظفر[٤*]

۱. مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. رایانامه: rezanahavandi91@gmail.com
۲. پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران. رایانامه: stamadoni@gmail.com
۳. گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: sadeghi.a_shilat@yahoo.com
٤. نویسنده مسئول، ایستگاه تحقیقات نرمتنان خلیج‌فارس، پژوهشکده اکولوژی خلیج‌فارس و دریای عمان، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرلنگه، ایران. رایانامه: sajjad5550@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۱/۰٤/۰۷
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۱/۰٤/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۰٥/۱۰

واژه‌های کلیدی:
اسید فرمیک،
ایمنی،
پارامترهای رشد،
شاخص‌های خونی،
ماهی قرمز

چکیده

اسید فرمیک، ساده‌ترین عضو گروه کربوکسیلیک اسیدها است. مطالعه حاضر به‌منظور بررسی اثرات اسید فرمیک بر پارامترهای رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی بچه‌ماهی قرمز (*Carassius auratus*) به‌مدت ٦۰ روز صورت گرفت. بچه‌ماهیان قرمز (با میانگین وزن اولیه ۰/۱٥±٥/۱۰ گرم) در یک طرح کاملاً تصادفی به ٤ تیمار آزمایشی و ۳ تکرار (۲٥ قطعه در هر تکرار) که شامل تیمار آزمایشی شاهد (بدون استفاده از اسید فرمیک) و سه تیمار با اضافه کردن مقادیر ۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم اسید فرمیک به هر کیلوگرم جیره، تقسیم شدند. نتایج نشان داد که شاخص‌های رشد (وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت و ضریب تبدیل غذایی) بین تیمار شاهد با تیمارهای حاوی اسید فرمیک اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰٥). وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در تیمارهای حاوی اسید فرمیک نسبت به گروه شاهد افزایش داشته است (P<۰/۰٥). افزودن اسید فرمیک به جیره غذایی ماهی قرمز باعث بهبود شاخص‌های خونی و ایمنی در این ماهیان شد به‌طوری‌که ماهیان تغذیه شده با تیمارهای حاوی اسید فرمیک افزایشی را در میزان هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و تعداد گلبول‌های سفید و میزان لیزوزیم، ایمونوگلوبین و ایمونوگلوبین کل نسبت به گروه شاهد شد (P<۰/۰٥). با توجه به نتایج به‌دست آمده، افزودن ۱۰ گرم اسید فرمیک در جیره غذایی به منظور بهبود عملکرد رشد و سیستم ایمنی ماهی قرمز توصیه می‌گردد.

استناد: نهاوندی، رضا، تمدنی جهرمی، سعید، صادقی، علی، پورمظفر، سجاد (۱۴۰۲). تأثیر اسید فرمیک بر عملکرد رشد، شاخص‌های خون‌شناسی و ایمنی بچه‌ماهی قرمز (*Carassius auratus*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۲ (۱)، ۸٥-۷٥.
DOI: 10.22069/japu.2022.20374.1682

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

آبزی‌پروری به‌شدت و به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای به مواد مغذی که به‌عنوان خوراک برای تولید مؤثر آبزیان پرورشی استفاده می‌شوند وابسته است. یکی از راهبردها برای بهبود عملکرد و سلامت ماهیان، استفاده از مکمل‌های غذایی مانند اسیدآمینه، آنتی‌بیوتیک و اسیدهای آلی جهت کاهش ضریب تبدیل غذایی است (۱). 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 (۲). استفاده از آنتی‌بیوتیک در تغذیه ماهی رشد، تبدیل غذایی و نرخ بقای آن‌ها را بهبود می‌بخشد. با این وجود استفاده از آنتی‌بیوتیک باعث ایجاد مقاومت در برابر فلور میکروبی می‌شوند که ممکن است منجر به ایجاد مقاومت در بین انسان شوند. بنابراین پژوهش‌گران روی افزودنی‌های جایگزین مانند اسیدهای آلی، گیاهان دارویی، آنزیم‌ها و اسانس‌ها تمرکز کرده‌اند، از جمله اسیدهای الی زنجیره کوتاه و نمک‌هایشان که به‌دلیل اثرات مفید در نگهداری و حفظ خوراک و به عنوان مکمل غذایی حیوانات توجه خاص پژوهش‌گران را به خود جلب کرده‌اند (۳).

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. اسیدهای آلی، دسته‌ای از ترکیبات کربوکسیل دار یا 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 (٤). از بین این ترکیبات، آن‌هایی که بین ۱ تا ۷ اتم کربن دارند، دارای اثرات ضد میکروبی هستند (۵). بسیاری از این ترکیبات به شکل نمک‌های سدیم، پتاسیم و کلسیم در دسترس هستند. مزیت نمک‌ها نسبت به اسیدها این است که عموماً بی‌بو بوده و در فرآیند ساخت خوراک به علت شکل جامد و فرار بودن کم‌تر آن‌ها، راحت‌تر به کار برده می‌شوند. خوردگی این ترکیبات نیز کم‌تر و حلالیت آن‌ها در آب بیش‌تر است (٦). علاوه بر این، اسیدها و نمک‌ها رشد میکروبی در خوراک و نیز مجرای روده‌ای را کاهش می‌دهند. کاهش کلی میکروفلور روده، نیاز سوخت‌وسازی 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، اسیدی‌کننده‌ها از طریق سه روش مختلف تأثیر بر تغذیه، مجرای روده‌ای و سوخت‌وساز جانور، اعمال می‌کنند (۷). اسیدهای آلی سبب کاهش جمعیت ریزموجودات بیماری‌زا و سموم آلی از طریق جیره توسط آبزی شده و مدت زمان نگهداری خوراک را افزایش می‌دهند.

نقش دیگر 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 محدودشده که این پدیده باعث ارتقای سلامت دستگاه گوارش می‌شود. هم‌چنین، اسیدهای آلی باعث تغییر در ریخت‌شناسی دیواره روده و کاهش پرگنه باکتری‌های بیماری‌زا می‌شوند. اسیدهای آلی شامل اسید فرمیک، اسید استیک، پروپیونیک و اسید استیک از اسیدهای آلی متداولی هستند که در جیره غذایی آبزیان استفاده

شده‌اند (۸). مطالعات زیادی در رابطه با استفاده از اسیدهای آلی در آبزیان وجود دارد که نتایج متفاوتی بیان کردند. برخی از پژوهش‌گران بیان کردند که استفاده از اسیدهای آلی می‌تواند سبب افزایش رشد و تحریک ایمنی در آبزیان شود و برخی عدم تأثیر اسیدهای آلی بر رشد و ایمنی را گزارش کردند. جافر نوده و همکاران (۹) بیان کردند که افزودن ترکیب ۰/۵ درصد پتاسیم سوربات و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازیی به جیره غذایی بچه‌ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیرات مثبتی بر رشد دارد. حدیدی و طاعتی (۱۰) بیان نمودند که مکمل اسیدی فایر بایوترونیک در سطح ۸ گرم در کیلوگرم در تقویت کارایی تغذیه و نیز بهبود برخی از شاخص‌های خونی و ایمنی بچه‌ماهیان اسکار تأثیر داشته است. هم‌چنین استفاده از سدیم دی فرمات در جیره، قابلیت هضم مواد مغذی، قابلیت هضم مواد غذایی، اسیدهای آمینه و کیفیت فیزیکی پروتئین غله جو را در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان بهبود می‌بخشد (۱۱).

ماهی قرمز (*Carassius auratus*) از خانواده کپور ماهیان بوده و به لحاظ شرایط زیستی و تغذیه‌ای شبیه کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) می‌باشد (۱۲). ماهی‌های قرمز به‌عنوان عضو کوچک خانواده ماهی کپور، بومی شرق آسیا هستند که برای نخستین بار اواخر قرن هفدهم به اروپا وارد شدند. ماهی قرمز به عنوان گونه مقاوم شناخته شده است که در شرایط محیطی دشوار نیز می‌تواند رشد کند. ماهی قرمز می‌تواند به‌عنوان یک گونه مناسب جهت مدل‌سازی در مطالعات تغذیه‌ای، تولیدمثلی، فیزیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرد (۱۲). تاکنون اطلاعات کمی در خصوص اثر اسید فرمیک بر ماهی قرمز وجود دارد؛ بنابراین با توجه به کاربرد اسید فرمیک در اثربخشی جیره غذایی سایر گونه‌ها، هدف این مطالعه بررسی تأثیر اسید فرمیک بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی بچه‌ماهی قرمز می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طراحی آزمایش: تعداد ۳۰۰ قطعه بچه‌ماهی قرمز (*C. auratus*) با وزن اولیه ۰/۱۵±۵/۱۰ گرم از مرکز تکثیر ماهی قرمز از شهر رشت تهیه و به محل اجرای پروژه منتقل گردید. ماهیان به مدت ۱٤ روز به منظور سازش با شرایط جدید نگهداری شدند و پس از طی مراحل سازش به صورت تصادفی در وان‌های ٤۰۰ لیتری تقسیم شدند. در آزمایش حاضر ٤ تیمار با ۳ تکرار شامل جیره شاهد (فاقد اسید فرمیک)، تیمار دوم جیره حاوی ۱۰ گرم اسید فرمیک به هر کیلوگرم جیره، تیمار سوم حاوی ۲۰ گرم اسید فرمیک به هر کیلوگرم جیره و تیمار چهارم حاوی ۳۰ گرم اسید فرمیک به هر کیلوگرم جیره در نظر گرفته شد (۱۳). غذادهی ماهیان به صورت دستی و روزانه در ۳ نوبت (ساعات ۹، ۱۲ و ۱۵) انجام شد. تعویض آب روزانه به میزان ۳۰ درصد صورت گرفت. به منظور هوادهی و رفع نیاز اکسیژن ماهی‌ها، به هر یک از وان‌ها یک سنگ هوا که به منبع هواده متصل بود نصب شد. طول دوره آزمایش ٦۰ روز بود.

آماده‌سازی جیره: به‌منظور اضافه کردن سطوح مختلف مکمل به جیره پایه، ابتدا مقدار جیره برای کل دوره آزمایش (٦۰ روز) برای هر تیمار محاسبه شد و سپس اسید فرمیک با درصد مشخصی روی جیره اسپری شد. به‌منظور غذادهی ماهیان آزمایش از غذای کنسانتره تجاری ماهی کپور (شرکت فرادانه) با آنالیز تقریبی ٤۰ درصد پروتئین خام، ٦ درصد چربی خام و ۵ درصد فیبر خام استفاده شد. غذادهی به ماهیان براساس ۵ درصد وزن بدن انجام شد.

زیست‌سنجی و بررسی شاخص‌های رشد: در پایان آزمایش پس از ۲٤ ساعت گرسنگی، بچه‌ماهیان موجود در هر تکرار بیهوش شده و به منظور سنجش شاخص‌های رشد، طول و وزن آن‌ها برای محاسبه افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی، شاخص وضعیت و بازماندگی از طریق رابطه‌های زیر محاسبه گردید (۱٤).

افزایش وزن بدن = میانگین وزن نهایی – میانگین وزن ابتدایی

نرخ رشد ویژه (درصد) = [(لگاریتم طبیعی وزن نهایی – لگاریتم طبیعی وزن ابتدایی) ÷ (طول دوره پرورش)] × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی= میزان غذای خورده شده ÷ افزایش وزن

شاخص وضعیت= [(وزن نهایی (گرم) ÷ طول^{3} (سانتی‌متر)] × ۱۰۰

بازماندگی (درصد) = [(تعداد تلفات – تعداد کل ماهیان) ÷ تعداد کل ماهیان] × ۱۰۰

بررسی شاخص‌های خونی و ایمنی: در پایان دوره آزمایش، بعد از ٢٤ ساعت گرسنگی تعداد ۳ ماهی از هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب شد. به‌منظور خون‌گیری ابتدا ماهیان با استفاده از عصاره گل میخک به میزان ppm ۳۰۰ بیهوش شدند، سپس از ناحیه ساقه دمی با استفاده از سرنگ‌های هپارینه، نمونه خون تهیه و جهت اندازه‌گیری شاخص‌های خونی (هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد کل گلبول‌های سفید و تعداد کل گلبول‌های قرمز) (۱۵). هم‌چنین از سرنگ‌های غیرهپارینی برای تهیه نمونه سرم (۳ ماهی از هر تکرار) استفاده شد. سرم‌های به‌دست آمده تا زمان سنجش شاخص‌های ایمنی (لیزوزیم، ایمونوگلوبین و غلظت ایمونوگلوبین کل) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لیزوزیم با روش الیس، ۱۹۹۰ (١٦) اندازه‌گیری شد. ایمونوگلوبین کل با استفاده از روش سیوچکی و اندرسون (۱۷) اندازه‌گیری شد. بررسی میزان ایمونوگلوبین در نمونه‌های سرم براساس روش کدورت‌سنجی با استفاده از کیت سنجش ایمونوگلوبین (شرکت پارس آزمون- ایران) در طول موج ۳٤۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۸).

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و شاخص‌های خونی و ایمنی با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس از آزمون مقایسه چنددامنه‌ای دانکن، در سطح اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارهای مختلف صورت گرفت. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگراف- اسمیرنف بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 16 در محیط ویندوز و از نرم‌افزار Microsoft Excel 2013 استفاده شد.

نتایج

جدول ۱ شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های مختلف در پایان دوره آزمایش را نشان می‌دهد. نتایج آزمایش نشان داد که وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در تیمارهای حاوی اسید فرمیک افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است ($P<۰/۰۵$). با این‌حال شاخص‌های رشد (وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه، شاخص وضعیت و ضریب تبدیل غذایی) در بین تیمارهای حاوی اسید فرمیک (تیمارهای ۲، ۳ و ٤) دارای اختلاف معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). میزان بازماندگی بین تیمار شاهد و تیمارهای حاوی اسید فرمیک اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). هم‌چنین کاهش میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای حاوی اسید فرمیک (تیمارهای ۲، ۳ و ٤) نسبت به تیمار شاهد مشاهده گردید.

جدول ۱- مقایسه شاخص‌های رشد بچه‌ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسید فرمیک (میانگین ± انحراف معیار).

شاخص‌های رشد	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲ (۱۰ گرم اسید فرمیک در هر کیلوگرم جیره)	تیمار ۳ (۲۰ گرم اسید فرمیک در هر کیلوگرم جیره)	تیمار ٤ (۳۰ گرم اسید فرمیک در هر کیلوگرم جیره)
وزن اولیه (گرم)	۵/۱۰ ± ۰/۱۳	۵/۱۲ ± ۰/۱۷	۵/۰۸ ± ۰/۱۸	۵/۱۱ ± ۰/۱٤
وزن نهایی (گرم)	۱٤/۱۲ ± ۱/۱٦^{b}	۱۹/۰۲ ± ۱/۳٦^{a}	۲۱/۲۲ ± ۱/۱۹^{a}	۲۰/۸٦ ± ۱/۳۳^{a}
افزایش وزن (گرم)	۸/۱۸ ± ۱/۱۱^{b}	۱۳/۵۰ ± ۱/۱۰^{a}	۱۵/۳۹ ± ۱/۲۱^{a}	۱۵/۱٤ ± ۱/۱۲^{a}
نرخ رشد ویژه (درصد)	۲/۱۰ ± ۰/۰۹^{b}	۳/۲۳ ± ۰/۱۲^{a}	۳/۳۲ ± ۰/۱۳^{a}	۳/۳٦ ± ۰/۱۲^{a}
شاخص وضعیت	۱/۰۰ ± ۰/۰۸^{b}	۱/۲۷ ± ۰/۱۱^{ab}	۱/۲۹ ± ۰/۲۰^{ab}	۱/٤۲ ± ۰/۱٦^{a}
ضریب تبدیل غذایی	۱/۲۹ ± ۰/۰۵^{b}	۱/۱۷ ± ۰/۰٤^{a}	۱/۱۷ ± ۰/۰٦^{a}	۱/۱٤ ± ۰/۰٤^{a}
بازماندگی (درصد)	۹٤/۰۰ ± ۵/۱۰^{a}	۹٤/۱۰ ± ٤/۱۲^{a}	۹۵/۱۰ ± ۵/۲۰^{a}	۹۵/۱۰ ± ۳/۳۳^{a}

حروف غیرمشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد (P<۰/۰۵)

جدول ۲ پارامترهای خونی بچه‌ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های مختلف در پایان دوره آزمایش را نشان می‌دهد. تعداد گلبول‌های سفید، تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت بین تیمار شاهد (تیمار ۱) با تیمارهای حاوی اسید فرمیک (تیمار ۲، ۳ و ٤) اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان هموگلوبین در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمارهای تغذیه شده با ۵/۵ میلی‌گرم اسید فرمیک به هر کیلوگرم جیره (۰/۱۷ ± ۵/۷۱ گرم در میلی‌لیتر) بود و کم‌ترین میزان هموگلوبین در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمار شاهد (۰/۲۰ ± ٤/۹۰ گرم در میلی‌لیتر) بود. بیش‌ترین تعداد گلبول قرمز در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمارهای تغذیه شده با ۳۰ گرم اسید فرمیک به هر کیلوگرم جیره (۰/۰٤ ± 10^{6} × ۱/٦۰ سلول در میلی‌لیتر) بود و کم‌ترین تعداد گلبول قرمز در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمار شاهد (۰/۰٤ ± 10^{6} × ۱/۳٤ سلول در میلی‌لیتر) بود. بیش‌ترین تعداد گلبول سفید در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمارهای تغذیه شده با ۲۰ گرم فرمیک به هر کیلوگرم جیره (۰/۱۲ ± 10^{4} × ٤/۲۵ سلول در میلی‌لیتر) بود و کم‌ترین تعداد گلبول سفید در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمار شاهد (۰/۱۰ ± 10^{4} × ۳/۵۹ سلول در میلی‌لیتر) بود. بیش‌ترین میزان هماتوکریت در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمارهای تغذیه شده با ۲۰ به هر کیلوگرم جیره (۲/۱۸ ± ٤۰/٦۰ درصد) بود و کم‌ترین میزان هماتوکریت در بین تیمارهای آزمایش، مربوط به تیمار شاهد (۲/۲۹ ± ۳۳/٦٦ درصد) بود.

جدول ۲- شاخص‌های خونی بچه‌ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسید فرمیک (میانگین ± انحراف معیار).

شاخص‌های خون‌شناسی	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲ (۱۰ گرم اسید فرمیک در هر کیلوگرم جیره)	تیمار ۳ (۲۰ گرم اسید فرمیک در هر کیلوگرم جیره)	تیمار ٤ (۳۰ گرم اسید فرمیک در هر کیلوگرم جیره)
گلبول‌های سفید (سلول در میلی‌لیتر 10^{4} ×)	۳/۵۹ ± ۰/۱۰^{b}	٤/۲۰ ± ۰/۰۸^{a}	٤/۲۵ ± ۰/۱۲^{a}	٤/۱۸ ± ۰/۱٤^{a}
گلبول‌های قرمز (سلول در میلی‌لیتر 10^{6} ×)	۱/۳٤ ± ۰/۰٤^{b}	۱/۵۰ ± ۰/۰۵^{a}	۱/۵۲ ± ۰/۰۷^{a}	۱/٦۰ ± ۰/۰٤^{a}
هموگلوبین (گرم در میلی‌لیتر)	٤/۹۰ ± ۰/۲۰^{b}	۵/۳٦ ± ۰/۲۵^{ab}	۵/٤۳ ± ۰/۲۱^{ab}	۵/۷۱ ± ۰/۱۷^{a}
هماتوکریت (درصد)	۳۳/٦٦ ± ۲/۲۹^{b}	۳۷/۲۱ ± ۲/۲۱^{ab}	٤۰/٦۰ ± ۲/۱۸^{a}	۳۸/۲۰ ± ۲/۳۸^{ab}

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد (P<۰/۰۵)

جدول ۳ شاخص‌های ایمنی بچه‌ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های مختلف در پایان دوره آزمایش را نشان می‌دهد. میزان لیزوزیم، ایمونوگلوبین و ایمونوگلوبین کل بین تیمار شاهد (تیمار ۱) با تیمارهای حاوی اسید فرمیک (تیمار ۲، ۳ و ٤) اختلاف معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). میزان لیزوزیم، ایمونوگلوبین و ایمونوگلوبین کل در تیمارهای حاوی اسید فرمیک افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است (P<۰/۰۵). با این‌حال میزان لیزوزیم، ایمونوگلوبین و ایمونوگلوبین کل در بین تیمارهای حاوی اسید فرمیک (تیمارهای ۲، ۳ و ٤) دارای اختلاف معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

جدول ۳- پارامترهای ایمنی بچه‌ماهیان قرمز تغذیه شده با جیره‌های حاوی غلظت‌های مختلف اسید فرمیک (میانگین ± انحراف معیار).

شاخص‌های ایمنی خون	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲ (۱۰ گرم اسید فرمیک در هر کیلوگرم جیره)	تیمار ۳ (۲۰ گرم اسید فرمیک در هر کیلوگرم جیره)	تیمار ٤ (۳۰ گرم اسید فرمیک در هر کیلوگرم جیره)
لیزوزیم (واحد بین‌الملل بر میلی‌لیتر)	۱۰/۱۲ ± ۱/۱۲^{b}	۱٤/۸۵ ± ۱/۲۰^{a}	۱۵/۵۰ ± ۲/۱۲^{a}	۱۵/٦۱ ± ۱/٦۸^{a}
ایمونوگلوبین کل (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)	۸/۲۲ ± ۱/٦۰^{b}	۱۲/۹۷ ± ۲/۰۰^{a}	۱۳/۵۵ ± ۱/۹۰^{a}	۱٤/٦۰ ± ۲/۳۳^{a}
ایمونوگلوبین (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	٦/۰۰ ± ۰/۸۹^{b}	۱۰/۱۸ ± ۱/۱٦^{a}	۱۰/۵۲ ± ۱/۳۱^{a}	۱۱/٤۳ ± ۱/۲۳^{a}

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی می‌باشد (P<۰/۰۵)

بحث

در بسیاری از مزارع پرورشی شرایط محیطی نامطلوب مانند تغییرات در pH، پایین بودن اکسیژن محلول، افت کیفیت آب جهت پرورش و یا مشکلات مدیریتی شامل تغذیه‌ی ناکافی، تغذیه‌ی بیش از حد و تراکم خارج از استاندارد، استرس‌هایی را برای ماهیان پرورشی ایجاد نموده که سبب کاهش در رشد و تضعیف سیستم ایمنی شده و آن‌ها را در برابر انواع بیماری‌ها مستعد می‌سازد (۱۹). مطالعات انجام شده در گونه‌های آبزیان مناطق گرمسیر و سردسیر نشان می‌دهد که مجموعه متنوع اسیدهای آلی، نمک‌ها یا ترکیبات آن‌ها نقش مؤثری در بهبود رشد و مقاومت در برابر بیماری در آبزیان دارند (۷). اسیدهای آلی با حفظ pH مناسب دستگاه گوارش سبب بهبود اثر آنزیم‌ها بر مواد غذایی و جذب مواد غذایی بیش‌تر در حیوانات پرورشی می‌شود که نتیجه آن کاهش مواد غذایی جذب نشده برای رشد باکتری‌ها است (۷).

شاخص‌های رشد در این آزمایش تحت‌تأثیر اسید فرمیک قرار گرفتند به‌طوری‌که وزن نهایی، افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت در تیمارهای حاوی اسید فرمیک افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشته است (P<۰/۰۵). سلیمانی ایرایی و همکاران (۱۳۹۱) (۲۰) اثرات سطوح ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد مکمل اسیدهای آلی شامل اسید فرمیک، اسیدسیتریک، اسید مالیک، اسید لاکتیک و اسید تارتاریک را بر رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کردند، گزارش کردند که شاخص‌های رشد در تیمارهای تغذیه شده با اسیدهای آلی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشتند که با نتایج به‌دست آمده در آزمایش ما همخوانی دارد. سوداگر و همکاران (۲۰۱۰) (۲۱) گزارش کردند که افزودن اسید آلی در جیره فیل‌ماهی (*Huso huso*) باعث افزایش وزن نهایی، نرخ رشد ویژه و شاخص وضعیت گردیده است که با نتایج این پژوهش همخوانی داشت. هم‌چنین حسینی شکرابی و همکاران (۱۳۹۸)

(۱۳) اقدام به بررسی اثر اسید آلی تجاری بر شاخص‌های رشد ماهی کپور معمولی کرد. برای این منظور ماهیان به مدت ٦٠ روز با جیره‌های حاوی ۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا تغذیه شدند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزودن اسید آلی نقش مهمی در بهبود عملکرد رشد در این ماهی داشت به طوری که بالاترین میزان رشد در تیمار ۳۰ گرم مشاهده شد. اثر مثبت اسیدهای آلی بر عملکرد رشد در سایر آبزیان هم‌چون سیم دریایی (۲۲)، تیلاپیای نیل (۲)، ماهی گورخری (۲۳) میگوی وانامی (*Litopenaeus vanammei*) (٢٤) مشاهده شد. اسید آلی با ورود به داخل سلول و کاهش pH درون سلولی موجب اختلال در سیستم سنتز پروتئینی، مواد ژنتیکی و آنزیم‌های متابولیکی در باکتری‌های بیماری‌زا می‌شود (۲۵). بنابراین این باکتری‌ها برای حفظ اسیدیته داخل سلولی برای خروج پروتون‌ها انرژی بیش‌تری را صرف می‌کنند که در نهایت مرگ باکتری و ارتقاء سلامت و رشد آبزیان را به همراه دارد (۲۵). هم‌چنین اسیدهای آلی با زنجیره کوتاه از طریق اپیتلیال روده با انتشار غیرفعال جذب می‌شوند و می‌توانند در مسیرهای متابولیکی مختلفی مانند چرخه اسیدسیتریک جهت تولید انرژی شرکت کند. هم‌چنین افزایش آنزیم‌های گوارشی، کاهش رشد باکتری‌های مضر در دستگاه گوارش، افزایش مصرف غذا از اثرات مفید استفاده از اسیدهای آلی می‌باشد (۲۵ و ۲٦).

نتایج آزمایش نشان داد افزودن اسید فرمیک به جیره غذایی ماهی قرمز باعث بهبود شاخص‌های خونی و ایمنی در این ماهیان می‌شود به‌طوری‌که ماهیان تغذیه شده با تیمارهای حاوی اسید فرمیک افزایشی را در میزان لیزوزیم، ایمونوگلوبین و ایمونوگلوبین کل نسبت به گروه شاهد نشان دادند. بهبود شاخص‌های خونی در ماهیان تغذیه شده با تیمارهای حاوی اسید فرمیک به‌خوبی نشان‌دهنده بهبود کیفیت ایمنی ماهیان می‌باشد. همسو با این نتایج، بهرامی شیخ سرمست و همکاران (۱۳۹۸) (۲۷) گزارش دادند که استفاده خوراکی از اسید فرمیک به‌میزان ۲۰ گرم در هر کیلوگرم غذا در جیره غذایی ماهی کپور معمولی منجر به افزایش میزان لیزوزیم در سرم و موکوس این ماهی شد. هم‌چنین استفاده از پروپیونات در جیره غذایی ماهی سفید دریای خزر (۲۸) و ماهی گورخری (۲۹) منجر به افزایش میزان لیزوزیم در سرم و موکوس شد. اسیدهای آلی علاوه‌بر اثرات مفید بر فیزیولوژی دستگاه گوارش، با اتصال به گیرنده GPR43 سبب تحریک سلول‌های دخیل در ایمنی غیراختصاصی و التهابی مانند گلبول‌های سفید شده و در نهایت بهبود سیستم ایمنی را به دنبال خواهد داشت (۳۰). ایمونوگلوبین جز آنتی‌بادی‌های طبیعی بوده که قابلیت ایمنی‌زایی در برابر طیف گسترده‌ای از عوامل بیماری‌زا را دارا می‌باشد. بنابراین به‌عنوان یکی از بخش‌های حیاتی سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهی تبدیل شده است. در این مطالعه میزان ایمونوگلوبین کل در تیمارهای حاوی اسید فرمیک افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد داشت ولی این افزایش در میان تیمارهای حاوی اسید فرمیک معنی‌دار نبود. صفری و همکاران (۲۳) گزارش دادند که افزودن پروپیونات سدیم به جیره غذایی ماهی کپور معمولی به میزان ۵ و ۱۰ گرم به ازای هر کیلوگرم غذا موجب افزایش معنی‌دار میزان ایمونوگلوبین نسبت به تیمار شاهد شد که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت و همخوانی دارد. هم‌چنین نتایج مشابهی در مطالعه حسینی‌فر و همکاران (۲۸) پس از تغذیه ماهی گورخری با پروپیونات سدیم به ثبت رسید. یک بخش از سیستم دفاع غیراختصاصی در ماهی و سایر مهره‌داران سیستم لنفوئیدی در ارتباط با دستگاه گوارش بوده که نقش

مهمی در ارتباط با تنظیم پاسخ‌های ایمنی در پاسخ به مواد غذایی دارد (۳۱). بنابراین افزایش میزان ایمونوگلوبین‌ها را می‌توان به اثرگذاری فرمیک اسید نسبت داد که منجر به بهبود پاسخ‌های ایمنی می‌گردد.

تغییرات شاخص‌های خونی در ماهیان وابسته به شرایط محیط پرورش می‌باشد. بیماری، نوع تغذیه، مکمل‌های غذایی، آلودگی، استرس و سایر موارد می‌تواند در تغییر شاخص‌های خونی مؤثر باشند. در این مطالعه افزایش معنی‌داری در میزان هماتوکریت، هموگلوبین، تعداد گلبول‌های قرمز و تعداد گلبول‌های سفید در تیمارهای تغذیه شده با فرمیک اسید نسبت به تیمار شاهد مشاهده شد. در مطابقت با پژوهش حاضر، سلیمانی ایرایی و همکاران (۱۳۹۱) (۲۰) تأیید کردند که افزودن اسیدهای آلی تعداد گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های سفید، میزان هموگلوبین و هماتوکریت بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان را افزایش داده‌اند که با نتایج این پژوهش همخوانی داشت. هم‌چنین استفاده خوراکی از مکمل تجاری اسید آلی به میزان ٤ گرم به ازای هر کیلوگرم جیره، موجب افزایش تعداد گلبول‌های قرمز و سفید، هماتوکریت و هموگلوبین نسبت به تیمار شاهد شد (۱۰). علت افزایش هماتوکریت می‌تواند ناشی از کاهش حجم پلاسما، تورم گلبول‌های قرمز و آزاد شدن بیش‌تر گلبول‌های قرمز خون از بافت‌های خون‌ساز باشد. هم‌چنین افزایش تعداد گلبول‌های سفید، افزایش ایمنی غیراختصاصی و اختصاصی ماهی را به دنبال دارد.

نتیجه‌گیری

نتیجه حاصل از این مطالعه نشان داد که استفاده خوراکی از اسید فرمیک در جیره غذایی ماهی قرمز اثر مثبت بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی و ایمنی این ماهی داشت. با توجه به نتایج این مطالعه بهترین سطح از اسید فرمیک برای افزودن در جیره غذایی ماهی قرمز، ۱۰ گرم به ازای هر کیلوگرم جیره غذایی بود. بنابراین استفاده از این ماده بهبود سیستم ایمنی ماهی قرمز را به دنبال داشت. هم‌چنین مطالعات بیش‌تری در خصوص اثر اسید فرمیک در مواجهه با عوامل بیماری‌زا و شناخت دقیق مکانیسم اثرگذاری آن بر سیستم ایمنی آبزیان مورد نیاز می‌باشد.

منابع

1. Castillo, S., Rosales, M., Pohlenz, C., and Gatlin, D. 2014. Effects of organic acids on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture. 433p.
2. NRC. 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academies Press, Washington, D.C. 376p.
3. Abu Elala, N., and 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.
4. Ahmad, I. 2006. Effect of probiotics on broilers performance. International Journal of Poultry Science. 5: 593-597.
5. Eidelsburger, U. 1998. Feeding short-chain organic acid to pigs. In: In Recent Advances in Animal Nutrition, Garnsworthy, P.C. and J. Wiseman. Nottingham University Press, Nottingham, UK. pp. 93-106.
6. Huyghebaert, G., Ducatelle, R., and Immerseel, F. 2011. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. Veterinary Journal. 187: 182-188.
7. Lurkstadt, C. 2008. Acidifiers in Animal Nutrition. Nottingham University Press. 119p.
8. Wing-Keong, N., and Chik-Boon, K. 2016. The utilization and mode of action of organic acids in the feeds of cultured aquatic animals Reviews in Aquaculture. pp. 1-27.

9. Jafar Nodeh, A., Tokmeh, A., Haji Moradloo, A., and Nouri, F. 2015. Synergistic effects of potassium sorbate organic acid and probiotic Lactobacillus casei on growth and blood indices, carcass composition and intestinal microbial flora in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Applied Fisheries Research. 4: 59-74.
10. Hadidi, S., and Taati, R. 2016. The effect of different levels of biotronic fire acid supplementation on nutritional efficiency and some blood parameters and safety of Oscar tiger (*Astronotus ocellatus*). Iranian Journal of Veterinary Medicine. 3: 32-41.
11. Morken, T., Barrow, F., and Overland, M. 2011. Sodium diformate and extrusion temperature affect nutrient digestibility and physical quality of diets with fish meal and barley protein concentrate for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 317: 138-145.
12. Mimeault, C., Woodhouse, A., and Rudeau, V. 2005. The human lipid regulator, gemfibrozil bioconentrates and reduces testosterone in the Common carp (*Cyprinus carpio*). Aquatic Toxicology. 73: 44-54.
13. Shekarabi, H.P., Seyedalikhani, S., Shamsaie Mehrgan, M., Seyedalhosseini, S., and Manouchehri, H. 2019. Effect of different levels of organic acids mixture on some growth parameters and carcass composition of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. Iranian Scientific Fisheries Journal. 28: 4. 35-43.
14. Akbary, P., and Jahanbakhshi, A. 2007. Nano and macro iron oxide (Fe_2O_3) as feed additives: Effects on growth, biochemical, and activity of hepatic enzymes, liver histopathology and appetite-related gene transcript in goldfish (*Carassius auratus*). Aquaculture. 510: 191-197.
15. Feldman, B.F., Zinkl, J., and Jian, N. 2000. Schalms veterinary hematology, Lippincott Williams and Wilkins publication, Philadelphia, USA. 1750p.
16. Ellis, A.E. 1990. Lysozyme assay, Techniques in Fish Immunology. Fair Haven, USA. pp. 1-103.
17. Siwicki, A., and Anderson, D.P. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. Fish diseases diagnosis and preventions methods. pp. 105-112.
18. Thomas, L. 1998. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft. pp. 667-678.
19. Winton, J.R. 2001. Fish health management. In: Wedemeyer, G. 2001. Fish hatchery management. 2 edition. Bethesda, MD, American Fisheries Society. pp. 559-639.
20. Soleimani Erayi, M., Sajjadi, M., Keramat, A., and Karimzadeh, P. 2012. Effects of different levels of organic acid supplementation on growth efficiency, carcass composition and blood indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Aquatic Exploitation and Breeding. 1: 1-14.
21. Sudagar, M., Hosseinpoor, Z., and Hoseini, A. 2010. The use of citric acid as attractant in diet of grand sturgeon (*Huso huso*) fry and its effects on growing factors and survival rate. AACL Bioflux. 3: 311-316.
22. Sarker, M.S.A., Satoh, S., and Kiron, V. 2005. Inclusion of citric acid and/or acid-chelated trace elements in alternate plant protein source diets aspects growth and excretion of nitrogen and phosphorus in red sea bream (*Pagrus major*). Aquaculture. 262: 436-443.
23. Safari, R., Hoseinifar, S.H, Nejadmoghadam, S., and Khalili, M. 2017. Non specific immune parameters, immune, antioxidant and growth related genes expression of common carp (*Cyprinus carpio*) fed sodium propionate. Aquaculture Research. 10: 1-10.
24. Dai, J., Li, Y., Yang, P., Liu, Y., and Chen, Z. 2018. Citric acid as a functional supplement in diets for juvenile turbot, (*Scophthalmus maximus*): Effects on phosphorus discharge, growth performance, and intestinal health. Aquaculture. 1: 1-10.

25.Da Silva, B.C., do Nascimento Vieira, F., Mouriño, J.L.P., Ferreira, G.S., and Seiffert, W.Q. 2013. Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. Aquaculture, 384: 104-110.
26.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: 13. 1490-1500.
27.Bahrami Sheikh Sarmast, E., Meshkini, S., and Safari, R. 2019. Effects of dietary administration of Formic acid on mucosal immune, innate immune parameters of common carp fingerling (*Cyprinus carpio*), Utilization and Cultivation of Aquatics. 8: 3. 11-20.
28.Hoseinifar, S.H., Zoheiri, F., and Caipang, C.M. 2016. Dietary sodium propionate improved performance, mucosal and humoral immune responses in Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) fry. Fish and Shellfish Immunology. 55: 523-528.
29.Safari, R., Hoseinifar, S.H., and Kavandi, M. 2016. Modulation of antioxidant defense and immune response in zebra fish (*Danio rerio*) using dietary sodium propionate. Fish Physiology and Biochemistry. 10: 10-20.
30.Maslowski, K.M., Vieira, A.T., Ng, A., Kranich, J., Sierro, F., Yu, D., Schilter, H.C., Rolph, M.S., Mackay, F., Artis, D., and Xavier, R.J. 2009. Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. Nature, 461: 7268. 1282-1286.
31.Nayak, S.K. 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. Aquaculture Research. 41: 1553-1573.