

Growth performance, blood parameters, immunity, and digestive enzyme activity of the great sturgeon (*Huso huso*) fed with different levels of A-Cid Aqua acidifier

Taati R.^{1*}; Pajand Z.O.²; Mohseni M.²; Pourshafaghi A.¹

*r.taati@iau.ac.ir

1-Department of Fisheries, Tal.C., Islamic Azad University, Talesh, Iran

2-International Sturgeon Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

Received: May 2026

Accepted: July 2026

Published: September 2026



Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introduction

The great sturgeon (*Huso huso*) is the largest and one of the most economically important sturgeon species native to the Caspian Sea (Ciulli *et al.*, 2020). In recent years, this species has attracted considerable interest in global aquaculture due to its rapid growth rate, high tolerance to environmental stressors and pathogenic challenges, and adaptability to a wide range of culture conditions (Mohseni *et al.*, 2021). In aqua-feed industry, environmentally friendly feed additives have emerged as a promising strategy to reduce reliance on chemical treatments while enhancing nutrient bioavailability in fish and shellfish (Ng and Koh, 2017). Acidifiers (compounds containing organic acids and their salts) are one of the common additives with many beneficial effects in aquatic nutrition (Sotoudeh *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2022). The presence of organic acids reduces the acidity of food and prevents the growth of harmful microorganisms during storage or the secretion of toxic metabolites, especially mycotoxins produced by fungi (Metzler and Mosenthin, 2007). A-Cid Aqua Acidifier is a collection of short-chain organic acids including citric acid (15%), formic acid (15%), fumaric acid (10%), propionic acid (10%), lactic acid (5%), acetic acid (5%), and vermiculite (40%) as a carrier, which has properties such as improving digestive tract activity, strengthening the immune system, and reducing feed conversion ratio (FCR). A unique feature of this compound is the presence of fumaric acid, which increases feed intake by making it palatable, thereby improving digestion and absorption. Fumaric acid has an antimicrobial effect due to its lipophilic nature and high dissociation capacity (Martin-Dominguez *et al.*, 2018). Given that this compound has not been evaluated in sturgeon, the aim of the present study was to determine growth, blood parameters, immunity, and digestive enzyme activity of great sturgeon fed different levels of dietary A-Cid Aqua.

Methodology

Initially, the adaptation of the great sturgeon juveniles to the experimental tanks, density, and common commercial diet (Dibaq, Segovia, Spain) of the station was carried out for one week. Then, 240 great

sturgeon juveniles weighing 25.40 ± 3.91 g were randomly distributed into twelve 500-liter circular fiberglass tanks at a density of 20 fish per tank in three replicates. All tanks were equipped with a central aeration system. During the rearing period, the photoperiod was adjusted 14 h light and 10 h dark. Dietary treatments included 0 (control), 1 (A-Cid-1), 2 (A-Cid-2), and 4 (A-Cid-4) g of A-Cid Aqua (Sepehr Saman Fartak Additives Company, Mashhad, Iran) (Hadidi and Taati, 2016; Abdel-Tawwab *et al.*, 2019; Asgharzadeh and Taati, 2020; Zhang *et al.*, 2022) per kg in the basal diet. According to the instruction as suggested by Mohseni *et al.* (2021), the required amounts of acidifier were added to the basal diet for homogenization. At the end of the feeding trial, juveniles underwent a 24-hour starvation period. Subsequently, three fish from each treatment were randomly selected and blood was collected from the caudal vein using a 2 mL heparinized syringe. Hematological indices such as hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), red blood cells (RBC), white blood cells (WBC), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), and differential leukocyte counts were measured as described by Klontz (1994). According to Ellis (1990), the turbidimetric method was conducted to assay lysozyme. Plasma liver enzymes including aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were determined by kinetic colorimetric method and alkaline phosphatase (ALP) was measured via kinetic enzymatic method (Moss and Henderson, 1999). Enzymatic kinetic colorimetric method was performed to specify the activities of alpha-amylase, protease and lipase enzymes. All data were analyzed using SPSS software.

Results

Fish fed diets containing different levels of A-Cid Aqua revealed significant differences in final weight, weight gain, weight gain, specific growth rate (SGR), condition factor, and FCR compared to the control group. Final weight and weight gain in fish fed acidifier at the levels of 2 and 1g showed significant differences ($p < 0.05$) compared to the control and A-Cid-4. A significant improvement ($p < 0.05$) was obtained in FCR in A-Cid-2 group in comparison with those fed control and A-Cid-4 diets. In the final length index, it was seen a statistically significant difference between the A-Cid-1 group with the control and A-Cid-4. The highest value of SGR was achieved in the group that received 2g acidifier-added feed, which showed a significant difference with those fed 4g A-Cid Aqua and control diet. Moreover, no mortality occurred in the experimental groups during 60-day feeding trial. RBC count and the values of Hb and Hct recorded a similar trend, such that groups fed 2 and 4g A-Cid Aqua indicated a significant increase ($p < 0.05$) compared to other groups, respectively. The number of white blood cells showed a significantly higher value in A-Cid-2 group than the other groups ($p < 0.05$), while the lowest number was observed in fish fed A-Cid-4. Statistical analysis revealed no significant variations in MCH, MCHC, monocytes, and eosinophils. The number of lymphocytes increased ($p < 0.05$) in all treated groups. Liver enzymes in the control group were significantly ($p < 0.05$) lower than those fed acidified diets. In this regard, AST and ALT in the A-Cid-2 group recorded the highest ($p < 0.05$) values compared to control fish and the A-Cid-1 group. The immune system was boosted. An increase in lysozyme activity was apparent in fish exposed to A-Cid Aqua levels but only the A-Cid-2 group showed a significant difference with the control ($p < 0.05$). The A-Cid-2 group had the highest value ($p < 0.05$). In addition, IgM levels markedly ($p < 0.05$) elevated in the acidifier-fed groups. The highest IgM values were reported in A-Cid-2 and A-

Cid-4 groups as compared with those fed the control diet and 1g A-Cid Aqua ($p<0.05$). The activity of all three digestive enzymes in fish fed all levels of acidifier was higher than the control. There was no significant difference between fish fed the three levels of A-Cid Aqua from viewpoint of Alpha-amylase enzyme activity, but the levels of this enzyme in the control population decreased significantly ($p<0.05$). The highest ($p<0.05$) amount of lipase enzyme activity was found in the A-Cid-2 group. In addition, the protease enzyme activity elevated in all supplemented groups ($p<0.05$), and those fed 2g A-Cid Aqua indicated the highest value.

Discussion and conclusion

Aquaculture feed enriched with acidifiers improves palatability and physical quality, such as durability and stability in water, and can increase feed efficiency in the host. After a 60-day feeding period, the results clearly indicate that supplementation of diets with the acidifier A-Cid Aqua improved the growth, weight gain and feeding efficiency, such as reducing the FCR in great sturgeon. According to the obtained data, suitable condition was achieved in blood parameters, immunity such as lysozyme activity, IgM, and digestive enzyme activity. The beneficial effects of organic acids including enhancing growth performance, improving blood and biochemical parameters, and enhancing immune responses, have been proven in tiger fish (*Astronotus ocellatus*) (Hadidi and Taati, 2016), common carp (*Cyprinus carpio*) (Asgharzadeh and Taati, 2020), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Mohammadi *et al.*, 2020), yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) (Badzohre *et al.*, 2020), Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) (Falahatkar *et al.*, 2020; Kazemi *et al.*, 2023; Ashourpour *et al.*, 2026), Sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*) (Kakavand *et al.*, 2021), and great sturgeon (*Huso huso*) (Panahi Sahebi *et al.*, 2023). Nevertheless, because of the different results in liver enzymes compared to other parameters examined, this section requires a detailed and complementary study in the future to determine all its dimensions. Consequently, due to the undeniable role of A-Cid Aqua on growth, physiological factors and digestive enzymes, it is recommended to utilize this compound at the level of 2 g in great sturgeon diet as the main cultivated sturgeon species. Future research should focus on extracting organic acids from specific plants, developing food encapsulation technologies to increase stability in water, and inventing environmentally friendly organic acids-based feed formulation to increase mineral uptake, especially phosphorus, and prevent its excretion to realize organic and sustainable aquaculture.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest to report.

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge Mr. Ali Baghalian, aquatic research and development specialist at Sepehr Saman Fartak Additives Company (Mashhad, Iran), for his valuable assistance and support. The authors also extend their sincere appreciation to the staff and experts of the International Sturgeon Research Institute–Guilan Sturgeon Research Station for their technical assistance and support throughout this study.

Keywords

Beluga, Organic Acids, Growth, Blood, Enzyme

مقاله علمی - پژوهشی:

عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی، ایمنی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی فیل ماهی (*Huso huso*) تغذیه شده با جیره حاوی سطوح مختلف اسیدی فایر A-Cid Aqua

رضا طاعتی^{۱*}، ذبیح‌اله پزند^۲، محمود محسنی^۲، عظیم پورشفق^۱

*r.taati@iaui.ac.ir

۱ - گروه شیلات، واحد تالش، دانشگاه آزاد اسلامی، تالش، ایران

۲ - انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ چاپ: شهریور ۱۴۰۵

تاریخ پذیرش: تیر ۱۴۰۵

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۴۰۵

چکیده

اسیدی‌فایرها، نمک اسیدهای آلی هستند که می‌توانند به عنوان افزودنی طبیعی در تغذیه آبزیان در زمینه آبرزی‌پروری پایدار استفاده شوند. در تحقیق حاضر، به تأثیر تغذیه با سطوح مختلف اسیدی‌فایر تجاری A-Cid Aqua (به اختصار: A-Cid) بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی، بیوشیمیایی، ایمنی و آنزیم‌های گوارشی در فیل ماهی (*Huso huso*) پرداخته شد. ۲۴۰ عدد فیل ماهی با میانگین وزنی $25/40 \pm 3/91$ گرم به طور تصادفی در ۱۲ مخزن مدور فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری (۴ تیمار آزمایشی با ۳ تکرار) توزیع شدند و به مدت ۶۰ روز با جیره حاوی صفر (شاهد)، ۱ (A-Cid-1)، ۲ (A-Cid-2) و ۴ (A-Cid-4) گرم اسیدی‌فایر در کیلوگرم جیره پایه، در حد سیری ظاهری مورد تغذیه قرار گرفتند. در انتهای دوره، شاخص‌های رشد، فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی، ایمنی و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ارزیابی گردید. براساس نتایج وزن نهایی وزن کسب شده، درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه در گروه A-Cid-2 به طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌های آزمایشی بود و ضریب تبدیل غذایی در همین گروه کاهش یافت ($p < 0/05$). بالاترین مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و درصد لنفوسیت در گروه A-Cid-2 ثبت گردید ($p < 0/05$). آنزیم‌های پلاسمایی کبد در گروه شاهد نسبت به تیمارهای تغذیه شده با اسیدی‌فایر به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) پایین‌تر بود. فعالیت لایزوزیم و سطوح ایمنوگلوبولین M با افزایش سطح A-Cid در مقایسه با شاهد افزایش یافت ($p < 0/05$). علاوه بر این، گنجاندن اسیدی‌فایر در جیره غذایی فیل ماهی سطوح فعالیت آنزیم‌های آلفا-آمیلاز، پروتئاز و لیپاز را ارتقاء داد ($p < 0/05$). در مجموع، براساس نتایج، استفاده از A-Cid Aqua در سطح ۲ گرم در جیره غذایی فیل ماهیان می‌تواند باعث افزایش کارایی تغذیه و ترشح آنزیم‌های گوارشی، بهبود شاخص‌های خونی و تقویت پاسخ‌های ایمنی شود.

لغات کلیدی: بلوگا، اسیدهای آلی، رشد، خون، آنزیم

*نویسنده مسئول



Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

مقدمه

امروزه پرورش ماهیان خاویاری به دلیل گوشت و خاویار گرانبهای آنها در حال گسترش بوده و فرصت سرمایه‌گذاری مطلوبی را به وجود آورده است. فیل‌ماهی بزرگ‌ترین و شناخته شده‌ترین گونه ماهیان خاویاری بوده که بومی دریای خزر است (Ciulli *et al.*, 2020) و تولید خاویار درشت، مرغوب، لذیذ و گران‌قیمت، آن را تبدیل به گونه‌ای منحصربه‌فرد در جهان نموده است (Bronzi *et al.*, 2019). با وجود این، آلودگی منابع آبی، احداث سد در زیستگاه‌های آبی و صیادی ناپایدار، چالش‌های مخاطره‌آمیزی را ایجاد کرده و منجر به قرارگیری این ماهی به عنوان گونه‌ای بسیار در معرض خطر در فهرست قرمز IUCN شده است (Ruban *et al.*, 2019). در سالیان گذشته این گونه به دلیل رشد سریع و تحمل بالا در برابر عوامل استرس‌زای محیطی، شاخص‌های بیماری‌زا و شرایط مناسب برای پرورش، قابلیت گسترده‌ای برای عرضه در بازارهای جهانی یافته است (Mohseni *et al.*, 2021).

در صنعت خوراک آبزیان، افزودنی‌های خوراکی سازگار با محیط‌زیست، به عنوان رویکردی امیدوارکننده برای جایگزینی برخی از درمان‌های شیمیایی و بهبود فراهمی زیستی مواد مغذی در ماهیان و سخت‌پوستان در نظر گرفته شده‌اند (Ng and Koh, 2017). بیشتر ماهیان اسید کمی از دستگاه گوارش ترشح می‌کنند. در این زمینه، اسیدی‌فایرها (ترکیبات حاوی اسیدهای آلی و نمک‌های آنها)، یکی از افزودنی‌های رایج با اثرات مفید زیادی در تغذیه آبزیان محسوب می‌شوند. تحقیقات گذشته تأیید کردند که جیره‌های غذایی حاوی اسیدی‌فایرها می‌توانند با افزایش پاسخ‌های ایمنی در سرم و مخاط ماهی، سلامت ماهی را تقویت کنند (Sotoudeh *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2022). وجود اسیدهای آلی، اسیدیته غذا را کاهش می‌دهد و از رشد میکروارگانیسم‌های مضر هنگام ذخیره‌سازی یا ترشح متابولیت‌های سمی به‌ویژه میکوتوکسین‌های تولیدی از قارچ‌ها جلوگیری می‌کند (Metzler and Mosenthin, 2007). طبق نظر Ng و Koh (۲۰۱۷) اسید پروپیونیک، اسید فوماریک، اسید فرمیک، اسید لاکتیک و نمک‌های آنها دارای بیشترین کاربرد در خوراک حیوانات هستند. اسیدهای

آلی پس از عبور از غشاء باکتری‌های بیماری‌زا و ورود به سلول و جمع شدن یون هیدروژن در آن، سبب تضعیف سلول، نابودی اسیدهای نوکلئیک (از طریق یون کربوکسیل موجب توقف ساخت DNA می‌شوند) و در نهایت سبب مرگ باکتری می‌شوند (Hossain *et al.*, 2007). این فرایند، محیط مطلوب را برای رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک فراهم می‌کند و میکروفلور روده را بهبود می‌بخشد (Sotoudeh *et al.*, 2020).

اسیدی‌فایر A-Cid Aqua مجموعه‌ای از اسیدهای آلی با زنجیره کوتاه شامل اسید سیتریک (۱۵ درصد)، اسید فرمیک (۱۵ درصد)، اسید فوماریک (۱۰ درصد)، اسید پروپیونیک (۱۰ درصد)، اسید لاکتیک (۵ درصد)، اسید استیک (۵ درصد) و ترکیب ورمی کولیت (۴۰ درصد) به عنوان حامل بوده که دارای خواصی از جمله بهبود فعالیت دستگاه گوارش، تقویت عملکرد دستگاه ایمنی و کاهش ضریب تبدیل غذایی است. از ویژگی ممتاز این ترکیب، داشتن اسید فوماریک بوده که با ایجاد خوش‌خوراکی موجب افزایش مصرف خوراک و در نتیجه بهبود هضم و جذب می‌شود. اسید فوماریک به دلیل ویژگی چربی دوستی (لیپوفیلیک) و ظرفیت تفکیک بالای آن (تجزیه کامل اسید به یون‌های تشکیل‌دهنده آن)، اثر ضد میکروبی دارد. هنگام عبور از غشای سلول باکتری و کاهش pH سیتوپلاسم، متابولیسم باکتری و فعالیت آنزیمی را تغییر و رشد را مهار کرده و یا باعث مرگ سلول می‌شود (Martin-Dominguez *et al.*, 2018). اسید فوماریک به عنوان یک افزودنی مفید در خوراک گربه‌ماهی آفریقایی (Claria gariepinus) (Omosowone *et al.*, 2015) و به عنوان بخشی از ترکیبات اسیدهای آلی جیره غذایی برای گربه‌ماهی زرد (Pelteobagrus fulvidraco)، ارزیابی شده است (Zhu *et al.*, 2014). اثرات مفید اسیدهای آلی و نمک‌های آنها شامل ارتقاء عملکرد رشد، بهبود فراسنجه‌های خونی، بیوشیمیایی و تقویت پاسخ‌های ایمنی در ماهی تایگر (Astronotus ocellatus) (Hadidi and Taati, 2016)، کپور معمولی (Cyprinus carpio) (Asgharzadeh and Taati, 2020)، قزل‌آلای رنگین‌کمان (Oncorhynchus mykiss) (Mohammadi *et al.*, 2020)، تاسماهی سبیری

صفر (شاهد)، ۱ (A-Cid-1)، ۲ (A-Cid-2) و ۴ (A-Cid-4) گرم اسیدی فایر A-Cid Aqua (شرکت افزودنی های سپهر سامان فرتاک، مشهد، ایران) (Hadidi and Taati, 2016; Abdel-Tawwab et al., 2019; Asgharzadeh and Taati, 2020; Zhang et al., 2022) در کیلوگرم جیره پایه اکستروود (شرکت دیباک، سگوویا، اسپانیا) شامل ۴۵ درصد پروتئین، ۱۴ درصد چربی، ۷ درصد خاکستر و ۱/۸ درصد فیبر بود. به صورت روزانه و در تمام مدت ۶۰ روز آزمایش، دمای آب، مقادیر اکسیژن و pH با دستگاه مالیتری متر دیجیتال مدل WTW multiLine 3410 (Weilheim, Germany) اندازه گیری شدند. دما $19.0 \pm 0.46/83$ درجه سانتی گراد، اکسیژن محلول $7.0 \pm 0.91/79$ میلی گرم بر لیتر و pH 7.78 ± 0.41 ثبت گردیدند.

تهیه جیره های غذایی و غذادهی

طبق روش کار پیشنهادی Mohseni و همکاران (۲۰۲۱) برای افزودن و همگن سازی مقادیر بسیار کم مکمل به جیره غذایی، ابتدا مقادیر مورد نیاز اسیدی فایر برای همگن سازی به جیره پایه اکستروود پودر شده افزوده شدند. سپس مقداری آب مقطر به ترکیب اضافه شد تا شکل خمیری پیدا کند. آنگاه، مخلوط از چرخ گوشت عبور داده شد تا به رشته هایی تبدیل شوند. برای کاهش رطوبت، رشته ها در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت در خشک کن گذاشته شدند. پلت ها با قطر ۲ میلی متر بسته بندی شده و در فریزر در دمای ۱۴- درجه سانتی گراد تا زمان مصرف نگهداری شدند. قبل از توزیع غذا، جیره ها از فریزر خارج و پس از همدمایی با محیط، توزین و به ماهیان ارائه شد. برای همسان بودن شرایط تحقیق، برای تیمار شاهد، همه مراحل (به جز افزودن اسیدی فایر)، اجرا شد. تغذیه ماهیان در ساعات ۸:۰۰، ۱۳:۰۰ و ۱۸:۰۰ در حد سیری چشمی (با توجه به اشتها و غذاگیری ماهیان)، انجام پذیرفت.

بررسی وضعیت رشد و تغذیه ماهیان

در ابتدا، میانه و انتهای آزمایش فرایند زیست سنجی فیل ماهیان اجرا گردید. یک روز قبل از زیست سنجی غذادهی قطع تا دستگاه گوارش ماهیان به طور کامل تخلیه شود. ۸۳

(*Acipenser baerii*) (Falahatkar et al., 2020; Kazemi et al., 2023; Ashourpour et al., 2026) تاسماهی استرلیاد (*Acipenser ruthenus*) (Kakavand et al., 2021) و فیل ماهی (*Huso huso*) (Panahi et al., 2023) به اثبات رسیده است. به علاوه، اسیدی فایرها سبب ازدیاد هیدرولیز فیتات، نابودی عوامل میکروبی بیماری زا در روده و کاهش زمان تخلیه روده در هامور غول پیکر (*Epinephelus lanceolatus*) (Lin and Cheng, 2017) و تیلپای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Tran-Ngoc et al., 2019) شده اند. با توجه به این که این ترکیب در ماهیان خاویاری مورد ارزیابی قرار نگرفته، هدف تحقیق حاضر، تعیین عملکرد رشد، فراسنجه های خونی، ایمنی و فعالیت آنزیم های گوارشی فیل ماهی تغذیه شده با سطوح مختلف اسیدی فایر A-Cid Aqua در جیره است.

مواد و روش کار

طراحی آزمایش

این تحقیق در ایستگاه تحقیقات تاسماهیان گیلان وابسته به انستیتو تحقیقات بین المللی ماهیان خاویاری (واقع در چابکسر، گیلان)، در تابستان ۱۴۰۴ اجرا گردید. در آغاز، سازگاری بچه فیل ماهیان با مخازن آزمایشی، تراکم و جیره تجاری رایج (شرکت دیباک، سگوویا، اسپانیا) به مدت یک هفته انجام گرفت. در ادامه، ۲۴۰ عدد از ماهیان با میانگین وزنی $25/40 \pm 3/91$ گرم به طور تصادفی به ۱۲ مخزن فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری با حجم آبگیری ۳۵۰ لیتر با تراکم ۲۰ عدد در هر مخزن توزیع شدند (Mohseni et al., 2014, 2018; Falahatkar et al., 2018). همه مخازن مجهز به سیستم هوادهی مرکزی بودند. برای پرورش ماهیان، آب مورد نیاز از چاه با دبی ۹/۹-۳/۵ لیتر در دقیقه پس از عبور از فیلترها تأمین گردید. روزانه دو بار (قبل از غذادهی) و به مقدار ۳۰ درصد از حجم آب مخازن تعویض شد. طی دوره پرورش، دوره نوری به صورت ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی اجرا گردید.

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی مشتمل بر چهار تیمار با سه تکرار طراحی گردید. تیمارهای غذایی شامل

آنگاه، با استفاده از ساچوک ماهیان هر مخزن صید شدند. ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۱ گرم و تخته زیست‌سنجی با دقت یک میلی‌متر به ترتیب برای اندازه‌گیری وزن و طول کل ماهیان به کار گرفته شدند. طبق داده‌های حاصل از وزن و

طول ماهیان وضعیت رشد براساس معادلات ذیل ارزیابی گردید (Hung et al., 1993; Deng et al., 2003):

$$\text{Weight Gain (WG; g)} = W_2 - W_1$$

$$\text{Specific Growth Rate (SGR; \% / day)} = 100 \times [\ln W_2 - \ln W_1 / t]$$

$$\text{Body Weight Increase (BWI; \%)} = [WG / W_1] \times 100$$

$$\text{Condition Factor (CF)} = 100 \times (W_2 / L_2^3)$$

$$\text{Feed Conversion Ratio (FCR)} = \text{Feed Consumption} / \text{Weight Gain}$$

$$\text{Survival Rate (SR; \%)} = 100 \times [N_2 - N_1]$$

وزن WG: مدت پرورش (روز)، t: طول کل نهایی (سانتی‌متر)، L₂: لگاریتم نپرین، Ln: وزن نهایی (گرم)، W₂ (گرم)، W₁: وزن اولیه W₁: غذای FC: ضریب تبدیل غذایی، FCR: ضریب چاقی، CF: درصد افزایش وزن بدن، BWI: نرخ رشد ویژه، SGR: کسب شده، : تعداد ماهیان در پایان آزمایش N₂: تعداد ماهیان در آغاز آزمایش، N₁: نرخ ماندگاری، SR: مصرفی (گرم)، :

خون‌گیری و بررسی فراسنجه‌های خونی

در پایان آزمایش تغذیه‌ای، فیل ماهیان یک دوره گرسنگی ۲۴ ساعته را سپری نمودند. در ادامه، به طور تصادفی ۳ عدد ماهی از هر تیمار انتخاب و از رگ ساقه دمی ماهیان با استفاده از سرنگ هپارینه ۲ میلی‌لیتری خونگیری انجام گرفت. به منظور سنجش فراسنجه‌های خونی، مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر خون به تیوب‌های اپندورف هپارینه ریخته شد. غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت به ترتیب با روش‌های

سیانومت هموگلوبین و میکروهماتوکریت اندازه‌گیری شدند. با استفاده از لام هموسیتومتر، گلبول‌های قرمز و سفید خون شمارش شدند. شمارش تفریقی گلبول‌های سفید با تهیه گسترش خونی و رنگ آمیزی گیمسا انجام گرفت (Klontz, 1994). متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCH)، متوسط حجم گلبول قرمز (MCV) و متوسط غلظت هموگلوبین سلولی (MCHC) طبق روابط ذیل محاسبه شدند:

$$\text{Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH; pg/cell)} = (\text{Hemoglobin} \times 10) / \text{RBC}$$

$$\text{Mean Corpuscular Volume (MCV; fL)} = (\text{Hematocrit} \times 10) / \text{RBC}$$

$$\text{Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC; g/dL)} = (\text{Hemoglobin} \times 100) / \text{Hematocrit}$$

به منظور مطالعات بیوشیمیایی و ایمنی، مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر خون به تیوب‌های بدون هپارین ریخته و نمونه‌ها در زمان ۱۰ دقیقه و با ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شده و پلاسما به تیوب‌های تازه منتقل و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره‌سازی شدند. آنزیم‌های پلاسمایی کبد شامل آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) به روش رنگ‌سنجی کینتیک و آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش آنزیماتیک کینتیک اندازه‌گیری شدند (Moss and Henderson, 1999). فعالیت آنزیم‌های آلفا-آمیلاز، پروتئاز و لیپاز دستگاه گوارش

به روش آنزیماتیک رنگ‌سنجی کینتیک با دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شدند (Moss and Henderson, 1999; Tian et al., 2012). مقادیر ایمونوگلوبولین M (IgM) طبق روش ایمونوتوریدومتريک سنجش گردید (Bag et al., 2009). برای تعیین غلظت لایزوزیم از روش کدورت‌سنجی استفاده گردید. مقدار ۲۵۰ میکرولیتر سرم با ۱/۷۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری *Micrococcus luteus* (۰/۳۷۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر در بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار با pH ۶/۲) مخلوط و جذب نوری نمونه‌ها به

مدت ۵ دقیقه در فواصل ۳۰ ثانیه‌ای با الایزا در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد (Ellis, 1990).

روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

مطالعه حاضر، به شکل طرح کاملاً تصادفی اجرا و نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شدند. در ابتدا، نرمال بودن داده‌ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov و همگنی واریانس‌ها با آزمون Levene تعیین گردیدند. با عنایت به همگنی اعداد، برای مقایسه میانگین‌ها بین تیمارهای آزمایشی، آزمون‌های تجزیه واریانس یک طرفه و دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شدند. با کمک نرم افزار SPSS (IBM SPSS Statistics, Armonk, USA) نسخه ۲۷ داده‌ها مورد تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

ماهیان تغذیه شده با جیره‌های حاوی اسیدی‌فایر A-Cid

Aqua در وزن نهایی، میزان وزن کسب شده، درصد افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، ضریب چاقی و ضریب تبدیل غذایی اختلاف معنی‌داری با ماهیان شاهد بروز دادند ($p < 0.05$). شاخص‌های وزن نهایی و وزن کسب شده در ماهیان تغذیه شده با سطوح ۲ و ۱ گرم اسیدی‌فایر، اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) با شاهد و A-Cid-4 نشان دادند. در شاخص طول نهایی، گروه A-Cid-1 با ماهیان شاهد و A-Cid-4 اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). در شاخص درصد افزایش وزن بدن، تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) بین گروه‌های A-Cid-2 با A-Cid-4 و شاهد به‌وقوع پیوست. نرخ رشد ویژه در گروه A-Cid-2 بیشترین مقدار را ثبت کرد که اختلاف معنی‌داری با گروه A-Cid-4 و جمعیت شاهد بروز داد ($p < 0.05$). بهبود معنی‌داری ($p < 0.05$) در ضریب تبدیل غذایی در ماهیان گروه A-Cid-2 نسبت به تیمارهای شاهد و A-Cid-4 حاصل شد. ضریب چاقی در گروه A-Cid-2 در قیاس با سایر گروه‌های تغذیه‌ای بالاترین ($p < 0.05$) مقدار را به‌خود اختصاص داد (جدول ۱).

جدول ۱: تأثیر سطوح مختلف اسیدی‌فایر A-Cid Aqua جیره بر عملکرد رشد فیل ماهی طی مدت ۶۰ روز (میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ $n=3$)
Table 1: Effect of different levels of dietary A-Cid Aqua on growth performance of great sturgeon during 60 days (Mean $\pm$ SD; $n=3$)

Parameters	Dietary A-Cid Aqua Levels (g/kg)			
	0	1	2	4
IW (g)	24.45 $\pm$ 3.47	25.37 $\pm$ 4.98	25.87 $\pm$ 3.56	25.60 $\pm$ 3.58
FW (g)	79.20 $\pm$ 2.70 ^a	91.50 $\pm$ 0.75 ^b	98.57 $\pm$ 4.67 ^c	84.25 $\pm$ 4.25 ^a
FL (cm)	27.97 $\pm$ 0.27 ^a	28.92 $\pm$ 0.40 ^c	28.62 $\pm$ 0.27 ^{bc}	28.12 $\pm$ 0.35 ^{ab}
WG (g)	54.75 $\pm$ 2.90 ^a	66.12 $\pm$ 0.37 ^b	72.70 $\pm$ 5.30 ^b	58.65 $\pm$ 4.90 ^a
BWI (%)	224.00 $\pm$ 13.69 ^a	260.61 $\pm$ 2.37 ^{ab}	281.40 $\pm$ 27.28 ^b	229.52 $\pm$ 24.97 ^a
SGR (% /day)	1.96 $\pm$ 0.07 ^a	2.14 $\pm$ 0.01 ^{ab}	2.23 $\pm$ 0.12 ^b	1.98 $\pm$ 0.12 ^a
FCR	0.75 $\pm$ 0.04 ^c	0.64 $\pm$ 0.005 ^{ab}	0.60 $\pm$ 0.06 ^a	0.73 $\pm$ 0.08 ^{bc}
CF	0.36 $\pm$ 0.02 ^a	0.38 $\pm$ 0.01 ^a	0.42 $\pm$ 0.01 ^b	0.37 $\pm$ 0.005 ^a
SR (%)	100	100	100	100

نرخ رشد ویژه: SGR؛ درصد افزایش وزن بدن: BWI؛ وزن کسب شده: WG؛ طول نهایی: FL؛ وزن نهایی: FW؛ وزن اولیه: IW

FCR: ضریب تبدیل غذایی؛ SR: نرخ ماندگاری میانگین‌ها در هر ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار آماری دارند ($p < 0.05$).

IW: Initial Weight; FW: Final Weight; FL: Final Length; WG: Weight Gain; BWI: Body Weight Increase; SGR: Specific Growth Rate; FCR: Feed Conversion Ratio; CF: Condition Factor; SR: Survival Rate.
Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

روند مشابهی را ثبت نمودند که گروه‌های تغذیه شده با سطوح ۲ و ۴ گرم ترکیب A-Cid Aqua افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) نسبت به سایر گروه‌ها نشان دادند. تعداد

در جدول ۲ مقادیر فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی فیل‌ماهیان در پایان ۶۰ روز تغذیه ارائه شده است. تعداد گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و درصد هماتوکریت

گلبول‌های سفید در گروه A-Cid-2 به طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها بود ($p < 0.05$) در حالی که ماهیان A-Cid-4 دارای کمترین تعداد بودند. در ارتباط با متوسط حجم گلبول قرمز (MCV)، پایین‌ترین مقدار در ماهیان A-Cid-2 رؤیت شد ($p < 0.05$). در فراسنجه‌های MCH، MCHC، تعداد مونوسیت و ائوزینوفیل اختلافی ثبت نگردید ($p > 0.05$). بیشترین تعداد نوتروفیل در گروه شاهد بود ($p < 0.05$). ماهیان تغذیه شده با اسیدی‌فایر، بالاترین تعداد لنفوسیت را به خود اختصاص دادند. آنزیم‌های AST و ALT در گروه A-Cid-2 بالاترین مقدار را در قیاس با ماهیان شاهد و گروه A-Cid-1 ثبت کرد. بالاترین غلظت آنزیم ALP در ماهیان تغذیه شده با سطح ۲ گرم اسیدی‌فایر در قیاس با سایر گروه‌های تغذیه‌ای مشاهده شد ($p < 0.05$).

جدول ۲: تأثیر سطوح مختلف اسیدی‌فایر A-Cid Aqua جیره بر فراسنجه‌های خونی و بیوشیمیایی فیل ماهی طی مدت ۶۰ روز (میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ $n=3$)

Table 2: Effect of different levels of dietary A-Cid Aqua on hematological and biochemical parameters of great sturgeon during 60 days (Mean $\pm$ SD; $n=3$)

Parameters	Dietary A-Cid Aqua Levels (g/kg)			
	0	1	2	4
Hb (g/dL)	5.08 $\pm$ 0.20 ^a	4.88 $\pm$ 0.12 ^a	5.75 $\pm$ 0.22 ^b	5.58 $\pm$ 0.26 ^b
Hct (%)	22.53 $\pm$ 0.65 ^a	21.60 $\pm$ 0.80 ^a	25.30 $\pm$ 1.20 ^b	24.60 $\pm$ 0.95 ^b
RBC ($\times 10^6$ /mm ³)	0.58 $\pm$ 0.009 ^a	0.56 $\pm$ 0.01 ^a	0.67 $\pm$ 0.02 ^b	0.64 $\pm$ 0.02 ^b
WBC ($\times 10^3$ /mm ³)	24.06 $\pm$ 0.90 ^a	24.00 $\pm$ 1.30 ^a	27.53 $\pm$ 1.55 ^b	23.00 $\pm$ 1.20 ^a
MCV (fL)	383.33 $\pm$ 4.50 ^b	383.00 $\pm$ 2.00 ^b	373.33 $\pm$ 3.51 ^a	384.00 $\pm$ 2.00 ^b
MCH (pg/cell)	85.80 $\pm$ 1.90	86.73 $\pm$ 0.55	84.93 $\pm$ 0.15	86.90 $\pm$ 0.20
MCHC (g/dL)	22.36 $\pm$ 0.22	22.62 $\pm$ 0.26	22.75 $\pm$ 0.19	22.62 $\pm$ 0.18
Lymphocyte (%)	79.33 $\pm$ 0.57 ^a	83.33 $\pm$ 2.51 ^b	86.33 $\pm$ 1.52 ^b	85.00 $\pm$ 1.73 ^b
Neutrophil (%)	16.00 $\pm$ 1.00 ^b	10.33 $\pm$ 2.51 ^a	9.00 $\pm$ 2.00 ^a	9.33 $\pm$ 0.57 ^a
Monocyte (%)	4.00 $\pm$ 1.00	5.33 $\pm$ 0.57	5.33 $\pm$ 1.54	5.00 $\pm$ 1.00
Eosinophil (%)	0.66 $\pm$ 0.57	0.33 $\pm$ 0.57	0.66 $\pm$ 0.57	0.00 $\pm$ 0.00
AST (U/L)	158.00 $\pm$ 11.00 ^a	197.33 $\pm$ 12.50 ^b	288.33 $\pm$ 9.50 ^c	283.00 $\pm$ 2.00 ^c
ALT (U/L)	13.93 $\pm$ 1.85 ^a	15.80 $\pm$ 2.10 ^a	22.50 $\pm$ 1.10 ^b	20.23 $\pm$ 0.45 ^b
ALP (U/L)	299.33 $\pm$ 1.52 ^a	315.00 $\pm$ 3.00 ^a	346.33 $\pm$ 18.50 ^b	311.00 $\pm$ 3.00 ^a

Hb: هموگلوبین؛ Hct: هماتوکریت؛ RBC: تعداد گلبول‌های قرمز؛ WBC: تعداد گلبول‌های سفید؛ MCV: متوسط حجم گلبول قرمز؛ MCH: متوسط هموگلوبین گلبول قرمز؛ MCHC: متوسط غلظت هموگلوبین سلولی؛ AST: آسپاراتات آمینوترانسفراز؛ ALT: آلانین آمینوترانسفراز؛ ALP: آلکالین فسفاتاز. میانگین‌ها در هر ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار آماری دارند ($p < 0.05$).

Hb: Hemoglobin; Hct: Hematocrit; RBC: Red Blood Cell; WBC: White Blood Cell; MCV: Mean Corpuscular Volume; MCH: Mean Corpuscular Hemoglobin; MCHC: Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration; AST: Aspartate transaminase; ALT: Alanine transaminase; ALP: Alkaline phosphatase. Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

در جدول ۴، فعالیت آنزیم‌های گوارشی فیل ماهیان ارائه شده است. میزان فعالیت هر سه آنزیم گوارشی با افزایش سطوح اسیدی‌فایر جیره به شکل معنی‌داری بالاتر از شاهد بود ($p < 0.05$). فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز نشان داد که بین ماهیان تغذیه شده با سه سطح A-Cid Aqua، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، ولی سطوح این آنزیم در جمعیت شاهد، کاهش معنی‌داری یافت ($p < 0.05$). بالاترین مقدار

فعالیت لایزوزیم در ماهیانی که تحت تأثیر سطوح A-Cid Aqua قرار گرفتند، بالاتر از شاهد بود، ولی فقط گروه A-Cid-2 با شاهد، اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). در خصوص مقادیر IgM، افزایشی ($p < 0.05$) در گروه‌های تغذیه شده با اسیدی‌فایر مشهود بود. گروه‌های A-Cid-2 و A-Cid-4 در قیاس با ماهیان شاهد و A-Cid-1 بالاترین میزان IgM را به خود اختصاص دادند ($p < 0.05$) (جدول ۳).

فعالیت آنزیم لیپاز در گروه A-Cid-2 مشاهده شد (p<۰/۰۵). علاوه بر این، فعالیت آنزیم پروتئاز در گروه‌های تغذیه شده با اسیدی‌فایر نسبت به شاهد، ارتقاء (p<۰/۰۵) یافت که این افزایش در گروه A-Cid-2 بیشترین بود.

جدول ۳: تأثیر سطوح مختلف اسیدی‌فایر A-Cid Aqua جیره بر پاسخ‌های ایمنی فیل ماهی طی مدت ۶۰ روز (میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ n=۳)
Table 3: Effect of different levels of dietary A-Cid Aqua on immune responses of great sturgeon during 60 days (Mean $\pm$ SD; n=3)

Parameters	Dietary A-Cid Aqua Levels (g/kg)			
	0	1	2	4
Lysozyme (U/mL/min)	28.50 $\pm$ 1.70 ^a	30.50 $\pm$ 3.00 ^{ab}	33.23 $\pm$ 1.45 ^b	31.80 $\pm$ 0.90 ^{ab}
Immunoglobulin M (IgM) (mg/dL)	40.56 $\pm$ 1.02 ^a	45.10 $\pm$ 1.40 ^b	51.80 $\pm$ 1.95 ^c	50.83 $\pm$ 0.75 ^c

میانگین‌ها در هر ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار آماری دارند (p<۰/۰۵).

Means in the same row with different superscripts are significantly different (p<0.05).

جدول ۴: تأثیر سطوح مختلف اسیدی‌فایر A-Cid Aqua جیره بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی فیل ماهی طی مدت ۶۰ روز (میانگین $\pm$ انحراف معیار؛ n=۳)
Table 4: Effect of different levels of dietary A-Cid Aqua on digestive enzymes activities of great sturgeon during 60 days (Mean $\pm$ SD; n=3)

Enzymes	Dietary A-Cid Aqua Levels (g/kg)			
	0	1	2	4
α -amylase (U/L)	15.93 $\pm$ 0.55 ^a	21.23 $\pm$ 0.45 ^b	19.00 $\pm$ 0.60 ^b	18.63 $\pm$ 2.55 ^b
Lipase (U/L)	10.40 $\pm$ 0.50 ^a	11.23 $\pm$ 0.55 ^a	17.93 $\pm$ 0.45 ^c	12.93 $\pm$ 0.85 ^b
Protease (U/L)	4.09 $\pm$ 0.12 ^a	5.08 $\pm$ 0.20 ^b	5.32 $\pm$ 0.46 ^b	4.73 $\pm$ 0.39 ^b

میانگین‌ها در هر ردیف با حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار آماری دارند (p<۰/۰۵).

Means in the same row with different superscripts are significantly different (p<0.05).

بحث

شد. سایر یافته‌های علمی نشان داد که سطح ۱۰ گرم اسید بوتریک می‌تواند شاخص‌های رشد ماهی شانک زرد باله (*Acanthopagrus latus*) را ارتقاء دهد (Badzohreh et al., 2020). افزایش اسید فوماریک بر مصرف غذا و کارایی پروتئین گربه ماهی آفریقایی مؤثر بود و ضریب تبدیل غذایی با افزایش اسید در جیره کاهش یافت (Omosowone et al., 2015). این یافته‌ها هم‌سو با نتایج بررسی حاضر است که افزایش سطوح A-Cid Aqua (حاوی اسید فوماریک)، سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود کارایی تغذیه در فیل ماهی شده است. در مارماهیان (*Anguilla rostrata*) تغذیه شده با مکمل (اسید بوتریک، اسید فرمیک، اسید استیک، اسید سیتریک، اسید پروپیونیک، اسید لاکتیک، اسید مالیک و اسید سوربیک)، وزن‌گیری و نرخ رشد ویژه با افزودن در سطح ۴ گرم به شکل قابل توجهی افزایش یافت (Zhang et al., 2022). کاهش pH روده ماهی با ترکیبات اسیدی‌فایر می‌تواند علت اصلی واکنش‌های مفید در سیستم گوارش میزبان (هضم پروتئین، تحریک ترشح آنزیم‌های

خوراک آبریان غنی‌شده با اسیدی‌فایرها، خوش طعمی و کیفیت فیزیکی را در آب بهبود می‌بخشد و می‌تواند کارایی غذا را افزایش دهد. اسیدهای گوناگون تشکیل‌دهنده اسیدی‌فایرهای ترکیبی قادرند به خوبی با یکدیگر هم‌افزایی کنند تا تأثیر آنها به حداکثر برسد (Reyshari et al., 2019). طبق داده‌های تحقیق حاضر، پس از گذشت ۶۰ روز تغذیه، غنی‌سازی جیره‌های غذایی با اسیدی‌فایر A-Cid Aqua، توانست فرایند رشد (افزایش وزن) و کارایی تغذیه (تقلیل ضریب تبدیل غذایی) را در فیل ماهی بهبود دهد. در این عرصه، Hadidi و Taati (۲۰۱۶) دریافتند که تغذیه ماهی اسکار با سطوح ۲، ۴ و ۸ گرم اسیدی‌فایر بایوترونیک سبب ارتقاء رشد و کاهش ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با سطح ۸ گرم گردید. در تحقیق Asgharzadeh و Taati (۲۰۲۰) بر ماهی کپور معمولی نیز بالاترین وزن کسب شده، نرخ رشد ویژه و پایین‌ترین ضریب تبدیل غذایی در سطح ۸ گرم ترکیب بایوترونیک گزارش

روده باشد، زیرا اسیدی‌فایرها اسیدهای چرب کوتاه زنجیره (C1-C7) هستند و ورود آنها به روده باعث افزایش گردش خون می‌گردد (Cherbut *et al.*, 1997). مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت وابسته به تغییرات سلول‌های قرمز خون بوده و افزایش در غلظت آنها نشانه تغییرات مثبت در واکنش‌های متابولیک و نیاز اکسیژنی ماهیان است (Klontz, 1994). افزایش درصد هماتوکریت را می‌توان به کاهش حجم پلاسما، متورم شدن گلبول‌های قرمز و آزادسازی بیشتر آنها از بافت‌های خون‌ساز ربط داد (Benfey and Biron, 2000). در مطالعه Hadidi و Taati (۲۰۱۶) بر ماهی اسکار، بالاترین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۸ گرم اسیدهای پروپیونیک و فرمیک ثبت گردید. در آزمایشی مشابه، ماهیان کپور پرورشی تغذیه شده با ۸ گرم (اسیدهای پروپیونیک و فرمیک) اختلاف معناداری را در گلبول‌های قرمز، سفید، نوتروفیل و مقادیر هماتوکریت و هموگلوبین نشان دادند (Asgharzadeh and Taati, 2020). طبق گزارش Mohammadi و همکاران (۲۰۲۰) هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول‌های قرمز قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با ترکیب سدیم دی‌فرمات و اسید سیتريك نسبت به شاهد، اختلاف معنی‌داری بروز دادند.

در مطالعه حاضر، مشاهده شد که آنزیم‌های پلاسمایی کبد فیل ماهی بر اثر مصرف اسیدی‌فایر افزایش یافتند که این موضوع نیاز به مطالعات بافت‌شناسی دقیق بر کبد در پژوهش‌های آینده دارد. البته هیچ علائم بالینی بیماری، کم اشتها، رفتار غیرعادی و مرگومیر در ماهیان رخ نداد. طبق نظر Cui و همکاران (۲۰۱۴) افزایش آنزیم‌های پلاسمایی کبد، نشانه آسیب به کبد و اختلال در روند تولید املاح صفراوی است. از این رو، سلول‌های کبدی بر اثر آسیب وارده، تراوایی زیادی دارند که باعث رهاسازی بیشتر آنزیم‌ها در خون می‌شوند. Bitiren و همکاران (۲۰۰۴) اظهار داشتند که افزایش فعالیت آنزیم‌های پلاسمایی کبد می‌تواند در پاسخ به عوامل استرس‌زا وجود فلزات سنگین در بافت‌ها یا استرس اکسیداتیو باشد. در تضاد با بررسی کنونی، Romano و همکاران (۲۰۱۶) کاهش رشد و علائم آسیب کبدی (نکروز، اختلال در سینوزیت و خونریزی) را در هیبرید تیلاپیای نیل که با جیره غذایی حاوی سترات

گوارشی پانکراس)، کلاته‌کردن مواد معدنی با آنیون‌های اسیدی به عنوان یک اسید ضعیف، افزایش دسترسی به فسفر در جیره غذایی و مهار باکتری‌های بیماری‌زا با تشویق رشد باکتری‌های مفید باشد که همه این عوامل منجر به بهبود شاخص‌های رشد و ضریب تبدیل غذایی ماهیان می‌گردد (Elala and Ragaa, 2015; Kakavand *et al.*, 2021). تأمین انرژی برای سلول‌های اپیتلیال روده با جیره‌های غنی‌شده با اسیدی‌فایر می‌تواند ظرفیت روده را برای جذب مواد مغذی افزایش دهد که منجر به بهبود راندمان تغذیه‌ای و سرعت رشد ماهی می‌گردد (Ng *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2019). با وجود این، سطوح دی‌فرمات سدیم نتوانست رشد را در تاسماهی سیبری (Kazemi *et al.*, 2023) و دورگه تیلاپیا (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) بهبود بخشد (Zhou *et al.*, 2009). این نتایج متناقض می‌تواند به دلیل ماهیت شیمیایی (اسید، نمک، پوشش‌دار یا بدون پوشش)، وزن مولکولی، سطح گنجاندن، غلظت، گونه ماهی، محل اثر، ترکیب غذایی، صفات فیزیولوژیک دستگاه گوارش، شرایط پرورش و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب باشد (Sardar *et al.*, 2020).

در مطالعه حاضر، افزایش معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید در گروه A-Cid-2 و تعداد گلبول‌های قرمز و مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت در ماهیان تغذیه شده با سطوح ۲ و ۴ گرم اسیدی‌فایر ثبت گردید. یافته‌های این بررسی با نتایج سایر تحقیقات در این زمینه همخوانی دارد. مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول‌های سفید و قرمز گربه ماهیان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی ۱ گرم اسید فوماریک، بالاتر از گروه شاهد بود (Omosowone *et al.*, 2015). تأثیر اسید سیتريك و اسید بوتیریک به ترتیب در کپور هندی رو هو (*Labeo rohita*) و دورگه گربه ماهی آفریقایی × گربه ماهی سرگنده (*Clarias* × *C. gariepinus*) نشان داد که اسیدهای آلی قادرند مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد مونوسیت را به شکل تعیین‌کننده‌ای ارتقاء دهند (Baruah *et al.*, 2017; Chow *et al.*, 2007). افزایش در تعداد گلبول‌های قرمز می‌تواند ناشی از اثر اسیدهای آلی در

(جلوگیری از افزایش فراهمی زیستی کاتیون‌های منیزیم و کلسیم و طولانی شدن زمان تخلیه معده) به‌وسیله آنیون‌های اسید را تحریک کنند (Aalamifar *et al.*, 2020). تأمین انرژی برای سلول‌های اپیتلیال روده به‌وسیله جیره‌های غنی‌شده با اسیدی‌کننده‌ها می‌تواند ظرفیت روده را برای جذب مواد مغذی افزایش دهد که منجر به بهبود راندمان تغذیه‌ای در ماهیان می‌گردد (Liu *et al.*, 2019). فعالیت هر سه آنزیم گوارشی آلفا-آمیلاز، پروتئاز و لیپاز در فیل ماهیان تغذیه شده با A-Cid Aqua به صورت معنی‌داری بالاتر از شاهد بود. در مطابقت با این یافته، تأثیر پتاسیم دی‌فرمات، اسیدسیتریک و کلسیم لاکتات در ماهیان شوریده قرمز نشان‌دهنده این مطلب است که این ترکیبات قادرند، فعالیت آنزیم‌های گوارشی مترشح از پانکراس و روده را افزایش دهند و عملکرد رشد را به شکل قابل توجهی بهبود بخشند (Castillo *et al.*, 2014). در گزارش‌های مشابه به افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و آمیلاز در شانک زردباله تغذیه شده با اسید بوتریک (Badzohreh *et al.*, 2020) و تقویت فعالیت آنزیم پروتئاز در هیبرید تیلاپیا (Li *et al.*, 2009) و فیل ماهی (Jedi Mostafalou *et al.*, 2021) به ترتیب تغذیه‌شده با اسید سیتریک و سدیم دی‌فرمات، اشاره شده است. اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها دسترسی ظاهری به کلسیم، فسفر، منیزیم، منگنز و آهن را فراهم می‌کنند تا در مسیرهای متابولیک بدن شرکت کنند و سبب افزایش تولید انرژی در چرخه اسید کربوکسیلیک و بهبود قابلیت هضم برخی از مواد مغذی شوند. همچنین با کاهش pH دستگاه گوارش، قدرت ترشحی روده و لوزالمعده را تحریک می‌کنند و سبب ترشح بیشتر آنزیم‌های گوارشی می‌شوند (Castillo *et al.*, 2014). از دیگر اثرات سودمند اسیدی‌فایرها می‌توان به ازدیاد سلول‌های ترشحی روده، تحریک تبدیل پپسینوژن به پپسین، افزایش فعالیت لوزالمعده و کاهش زمان تخلیه دستگاه گوارش، اشاره کرد (Sotoudeh *et al.*, 2020).

در مجموع، به علت نقش تأثیرگذار اسیدی‌فایر A-Cid Aqua بر رشد، تغذیه، شاخص‌های فیزیولوژیک و آنزیم‌های گوارشی، مصرف این ترکیب در سطح ۲ گرم در جیره غذایی فیل ماهی به عنوان اصلی‌ترین گونه پرورشی ماهیان خاویاری، پیشنهاد می‌گردد. تحقیقات آینده باید بر استخراج

سدیم تغذیه شده بودند، گزارش نمودند. در تطابق با تحقیق حاضر، افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم ALP در ماهیان استرلیاد تغذیه شده با دی‌فرمات پتاسیم نسبت به شاهد، گزارش گردید (Kakavand *et al.*, 2021). به‌علاوه، Castillo و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که اثر اسیدهای آلی بر ماهی شوریده قرمز سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های پلاسمایی کبد گردید. این افزایش ممکن است اثر غیرمستقیم اسیدهای آلی باشد.

طبق بررسی‌های انجام شده، غلظت‌های پایین اسیدهای آلی در تحریک رشد باکتری‌های غیربیماری‌زا و اسید لاکتیک نقش دارد درحالی‌که غلظت‌های بالاتر، اثرات باکتریواستاتیک دارند و می‌توانند جمعیت باکتری‌های فرصت‌طلب را کاهش دهند (Busti *et al.*, 2020). در بررسی حاضر، مقادیر لایزوزیم و ایمونوگلوبولین M در ماهیان تغذیه شده با اسیدی‌فایر A-Cid Aqua افزایش معنی‌داری نشان داد که این افزایش در گروه A-Cid-2 بالاترین بود. واکنش‌های اختصاصی در ماهیان پس از تحریک آنتی‌ژن و فعالیت ایمنی هومورال، با مشارکت ایمونوگلوبولین به‌ویژه IgM، گسترش می‌یابند (Bag *et al.*, 2009). به‌علاوه، ثابت شده است که اسیدی‌فایرها با اتصال به گیرنده متصل به پروتئین G (GPR43) که در سلول‌های پاسخ ایمنی ذاتی و التهابی بیان می‌شوند، فعالیت لایزوزیم را بهبود می‌بخشند (Elala and Ragaa, 2015). همسو با تحقیق حاضر، بیشترین فعالیت لایزوزیم و IgM در ماهیان اسکار (Hadid and Taati, 2016) و کپور معمولی (Asgharzadeh and Taati, 2020) تغذیه شده با مکمل اسیدی بایوترونیک، اعلام گردید. Reyshari و همکاران (۲۰۱۹) نتیجه گرفتند که جیره‌های غنی‌شده با نمک اسید فرمیک به دلیل تکثیر باکتری‌های اسیدلاکتیک منجر به اصلاح میکروفلور روده و تقویت پاسخ‌های ایمنی (فعالیت لایزوزیم، مسیر کمپلمان و پروتئین کل) در باس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) می‌شوند.

قابلیت هضم‌پذیری مواد مغذی با مقدار فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، تریپسین و لیپاز دستگاه گوارش، قابل سنجش است (Yan and Qiu-Zhou, 2006). اسیدهای آلی و نمک‌های آنها از طریق کاهش pH روده می‌توانند فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک روده و فرآیند کلاته شدن مواد معدنی

- fed acidifier supplementation. *Journal of Animal Environment*, 12(1):269-276. DOI:10.22034/aej.2020.105344 (in Persian)
- Ashourpour, A., Shamsaei Mehrjan, M.S., Rajabi Islami, H., Shenavar Masouleh, A. and Mohseni, M., 2026.** Effect of sodium diformate and potassium diformate in the diet on some serum macro minerals, stomach pH, and bacterial population in the feces of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869). *Journal of Aquaculture Development*, 19(4):60-75. DOI:10.71901/jad-2025-4-825 (in Persian)
- Badzohreh, G., Zarei, S., Davoodi, R., Nafisi Bahabadi, M., Salehi, F., Morshedi, V. and Sotoudeh, E., 2020.** Effects of different levels of dietary butyric acid on some growth performance, immunity and digestive enzymes activity of yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus* Houttuyn, 1782). *Aquatic Animals Nutrition*, 6(3):55-67. DOI:10.22124/janb.2021.18938.1124 (in Persian)
- Bag, M.R., Makesh, M., Rajendran, K.V. and Mukherjee, S.C., 2009.** Characterization of IgM of Indian major carps and their cross-reactivity with anti-fish IgM antibodies. *Fish and Shellfish Immunology*, 26:275-278. DOI:10.1016/j.fsi.2008.11.009
- Baruah, K., Sahu, N.P., Pal, A.K., Jain, K.K., Debnath, D. and Mukherjee, S.C., 2007.** 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. DOI:10.1111/j.1365-2109.2006.01624.x
- اسیدهای آلی از گیاهان خاص، توسعه فناوری‌های کپسوله کردن غذا برای افزایش پایداری در آب و ابداع فرمولاسیون خوراک بر پایه اسیدهای آلی و سازگار با محیط‌زیست برای افزایش جذب مواد معدنی به‌ویژه فسفر و جلوگیری از دفع آن برای تحقق آبی‌پروری ارگانیک و پایدار متمرکز شود.
- ### تشکر و قدردانی
- از آقای مهندس علی بقالیان کارشناس تحقیق و توسعه آبریان (شرکت افزودنی‌های سپهر سامان فرتاک، مشهد) و کارشناسان انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری-ایستگاه تحقیقات تاسماهیان گیلان که در مراحل مختلف اجرای این تحقیق مساعدت نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.
- ### منابع
- Aalamifar, H., Soltanian, S., Vazirzadeh, A., Akhlaghi, M., Morshedi, V., Gholamhosseini, A. and Torfi Mozanzadeh, M., 2020.** Dietary butyric acid improved growth, digestive enzyme activities and humoral immune parameters in Barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture Nutrition*, 26(1):156-164. DOI:10.1111/anu.12977
- Abdel-Tawwab, M., Khattaby, A.R.A. and Monier, M.N., 2019.** Dietary acidifiers blend enhanced the production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), striped mullet (*Mugil cephalus*), and African catfish (*Clarias gariepinus*) polycultured in earthen ponds. *Aquaculture International*, 27:369-379. DOI:10.1007/s10499-018-0329-0
- Asgharzadeh, A. and Taati, R., 2020.** Evaluation of growth performance, some hematological and immune parameters of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings

- Benfey, T.G. and Biron, M., 2000.** Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, 184:167-176. DOI:10.1016/S0044-8486(99)00314-2
- Bitiren, M., Karak, A.Z., Zerir, M., Aksoy, N. and Musa, D., 2004.** Effects of selenium on histopathological and enzymatic changes in experimental live injury of rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 56:59-64. DOI:10.1016/j.etp.2004.05.001
- Bronzi, P., Chebanov, M., Michaels, J.T., Wei, Q., Rosenthal, H. and Gessner, J., 2019.** Sturgeon meat and caviar production: Global update 2017. *Journal of Applied Ichthyology*, 35:257-266. DOI:10.1111/jai.13870
- Busti, S., Rossi, B., Volpe, E., Ciulli, S., Piva, A., D'Amico, F., Soverini, M., Candela, M., Gatta, P.P., Bonaldo, A., Grilli, E. and Parma, L., 2020.** Effects of dietary organic acids and nature identical compounds on growth, immune parameters and gut microbiota of European sea bass. *Scientific Reports*, 10(1):213-221. DOI:10.1038/s41598-020-78441-9
- Castillo, S., Rosales, M., Pohlenz, C. and Gatlin, D.M.III., 2014.** Effects of organic acids on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*, 433:6-12. DOI:10.1016/j.aquaculture.2014.05.038
- Cherbut, C., Aube, A., Blottiere, H. and Galmiche, J., 1997.** Effect of short-chain fatty acids on gastrointestinal motility. *Scandinavian Journal of Gastroenterology Supplement*, 222:58-61. DOI:10.1080/00365521.1997.11720720
- Chow, E.P.Y., Liong, K.H. and Schoeters, E., 2017.** Dietary encapsulated butyric Acid (Butipearl™) and microemulsified carotenoids (Quantum GLO™ Y) on the growth, immune parameters and their synergistic effect on pigmentation of hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* × *Clarias gariepinus*). *Fisheries and Aquaculture Journal*, 8:1-7. DOI:10.4172/2150-3508.1000195
- Ciulli, S., Volpe, E., Sirri, R., Tura, G., Errani, F., Zamperin, G., Toffan, A., Silvi, M., Renzi, A., Abbadi, M. and Biasini, L., 2020.** Multifactorial causes of chronic mortality in juvenile sturgeon (*Huso huso*). *Animals*, 10:1866. DOI:10.3390/ani10101866
- Cui, Y., Ye, Q., Wang, H., Li, Y., Yao, W., and Qian, H., 2014.** Hepatoprotective potential of *Aloe vera* polysaccharides against chronic alcohol-induced hepatotoxicity in mice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94:1764-1771. DOI: 10.1002/jsfa.6489
- Deng, D.F., Koshio, S., Yokoyama, S., Bai, S.C., Shao, Q., Cui, Y., and Hung, S.S., 2003.** Effects of feeding rate on growth performance of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) larvae. *Aquaculture*, 217:589-598. DOI:10.1016/S0044-8486(02)00461-1
- Elala, N.M.A. and Ragaa, N.M., 2015.** Eubiotic effect of a dietary acidifier (*Potassium diformate*) on the health status of cultured *Oreochromis niloticus*. *Journal of*

- Advanced Research*, 6(4):621–629.
DOI:10.1016/j.jare.2014.02.008
- Ellis, A.E., 1990.** Lysozyme assays. In: Stolen, J.S., Fletcher, D.P., Anderson, B.S. and Van Muiswinkel, W.B. (eds.) *Techniques in Fish Immunology*. SOS Publication, USA. pp 101-103.
- Falahatkar, B., Asheri, S., Safarpour Amlashi, A. and Ershad Langroudi, H., 2018.** Canola oil, as a good alternative dietary lipid source in sturgeon: Effects on growth, physiology and fatty acid profile in Beluga sturgeon *Huso huso* L. *Aquaculture Nutrition*, 24:1263–1273.
DOI:10.1111/anu.12664
- Falahatkar, B., Alizade, H., Ouraji, H. and Efatpanah, I., 2020.** Effect of dietary malic acid on hematological, biochemical and immunological indices of juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt, 1869). *Journal of Fisheries*, 72(4):419-434.
DOI:10.22059/jfisheries.2020.297616.1138 (In Persian)
- Hadidi, S. and Taati, R., 2016.** Effect of different levels of dietary Biotronic™ as acidifier supplement on feed efficiency and some hematological and immune parameters of tiger Oscar (*Astronotus ocellatus*). *Iranian Veterinary Journal*, 12(3):32-41.
DOI:10.22055/ivj.2016.34438 (in Persian)
- Hossain, M.A., Pandey, A. and Satoh, S., 2007.** Effect of organic acids on growth and phosphorus utilization in red sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science*, 73:1309-1317.
DOI:10.1111/j.1444-2906.2007.01469.x
- Hung, S.S.O., Lutes, P.B., Shqueir, A.A. and Conte, F.S., 1993.** Effect of feeding rate and water temperature on growth of juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture*, 115:297-303.
DOI:10.1016/0044-8486(93)90144-N
- Jedi Mostafalou, A., Hedayati Fard, M., Keshavarz Divkolaie, M. and Mohamadyan, T., 2021.** Comparative study of different levels of sodium Di-formate (NDF) and formic acidifiers on nutrition, growth and activity of digestive enzymes in beluga (*Huso huso*). *Journal of Animal Environment*, 13(1):247-258.
DOI:10.22034/aej.2020.133636 (in Persian)
- Kakavand, M., Hosseini Shekarabi, S.P., Shamsaie Mehrgan, M., and Islami, H.R. 2021.** Potassium diformate in the diet of sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*): Zootechnical performance, humoral and skin mucosal immune responses, growth-related gene expression and intestine morphology. *Aquaculture Nutrition*, 27:2392–2404.
DOI:10.1111/anu.13371
- Kazemi, M., Mohammadian, T., Mesbah, M., Basir, Z., Khosravi, M. and Tabandeh, M.R., 2023.** Effects of different levels of sodium diformate on serum biochemical parameters in juvenile Siberian sturgeon *Acipenser baerii*. *Journal of Animal Environment*, 15(3):77-84.
DOI:10.22034/AEJ.2022.362421.2886 (in Persian)
- Klontz, G.W., 1994.** Fish hematology. In: Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Kelikoff, T.C., Kaatari, S.L. and Smith, S.A.

- (eds.) Techniques in fish immunology. Vol.3. SOS Publications, Fair Haven, New Jersey, USA. pp 121-132.
- Li, J.S., Li, J.L. and Wu, T.T., 2009.** Effects of non-starch polysaccharides enzyme, phytase and citric acid on activities of endogenous digestive enzymes of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*). *Aquaculture Nutrition*, 15:415–420. DOI:10.1111/j.1365-2095.2008.00606.x
- Lin, Y.H., and Cheng, M.Y., 2017.** Effects of dietary organic acid supplementation on the growth, nutrient digestibility and intestinal histology of the giant grouper *Epinephelus lanceolatus* fed a diet with soybean meal. *Aquaculture*, 469:106–111. DOI:10.1016/j.aquaculture.2016.11.032
- Liu, Y., Chen, Z., Dai, J., Yang, P., Xu, W., Ai, Q., Zhang, W., Zhang, Y., Zhang, Y. and Mai, K., 2019.** Sodium butyrate supplementation in high-soybean meal diets for turbot (*Scophthalmus maximus* L.): effects on inflammatory status, mucosal barriers and microbiota in the intestine. *Fish and Shellfish Immunology*, 88:65–75. DOI:10.1016/j.fsi.2019.02.064
- Martin-Dominguez, V., Estevez, J., Ojembarrena, F.D.B., Santos, V. E. and Ladero, M., 2018.** Fumaric acid production: A biorefinery perspective. *Fermentation*, 4(2):33. DOI:10.3390/fermentation4020033
- Metzler, B. and Mosenthin, R., 2007.** Effects of organic acids on growth performance and nutrient digestibility in pigs. In: Luckstadt, C. (ed.) Acidifiers in animal nutrition- A guide for feed preservation and acidification to promote animal performance. Nottingham University Press, Nottingham. UK. pp.39-54.
- Mohammadi, M.J., Rajabzadeh Ghatrami, E., Soltani, M., Ghaedi, A. and Alishahi, M., 2020.** Effects of sodium diformate and citric acid on growth performance, immune and hematological parameters of the juvenile *Oncorhynchus mykiss*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 29(1):117-129. DOI:10.22092/ISFJ.2019.120536 (in Persian)
- Mohseni, M., Amirkhani, A., Seyed Hassani, M.H. and Pourali, H.R., 2014.** Effect of different dietary protein and energy levels on growth of juvenile Beluga (*Huso huso*). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 22(4):107-118. (in Persian)
- Mohseni, M., Seyed Hassani, M., Pourali, H., Kazemi, R. and Hallajan, A., 2018.** Effect of different levels of choline on growth factors, carcass compositions, and haematological-biochemical parameters in juvenile *Huso huso*. *Journal of Fisheries Science and Technology*, 7(3):191-197. (in Persian)
- Mohseni, M., Hamidoghli, A. and Bai, S.C., 2021.** Organic and inorganic dietary zinc in beluga sturgeon (*Huso huso*): Effects on growth, hematology, tissue concentration and oxidative capacity. *Aquaculture*, 539:736672. DOI:10.1016/j.aquaculture.2021.736672
- Moss, D.W. and Henderson, A.R., 1999.** Clinical enzymology. In: Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (eds.) Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd edn. W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA. pp 617-721.
- 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. DOI:10.1111/j.1365-2109.2009.02249
- Ng, W.K. and Koh, C.B., 2017.** The utilization and mode of action of organic acids in the feeds of cultured aquatic animals. *Reviews in Aquaculture*, 9:342–368. DOI:10.1111/raq.12141
- Omosowone, O., Dada, A. and 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. DOI:10.14798/73.1.782
- Panahi Sahebi, H., Oraji, H., Firouzbakhsh, F. and Ghiasi, M., 2023.** Effects of sodium butyrate dietary supplement on some haematological parameters, immunity and intestinal microbiota and response to stocking density stress of young beluga (*Huso huso*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 11(4):95-107. DOI:10.22069/japu.2022.20268.1670 (in Persian)
- Reyshari, A., Mohammadiazarm, H., Mohammadian, T. and Torfi Mozanzadeh, M., 2019.** Effects of sodium diformate on growth performance, gut microflora, digestive enzymes and innate immunological parameters of Asian sea bass (*Lates calcarifer*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 25(5):1135–1144. DOI:10.1111/anu.12929
- Romano, N., Simon, W., Ebrahimi, M., Fadel, A.H., Chong, C.M. and 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. DOI:10.1016/j.aquaculture.2016.03.014
- Ruban, G., Khodorevskaya, R. and Shatunovskii, M., 2019.** Factors influencing the natural reproduction decline in the beluga (*Huso huso*), Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*), and stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) of the Volga–Caspian basin: A review. *Journal of Applied Ichthyology*, 35:387-395. DOI:10.1111/jai.13885
- Sardar, P., Shamna, N. and Sahu, N.P., 2020.** Acidifiers in aquafeed as an alternate growth promoter: A short review. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 20(2):353-366. DOI:10.5958/0974-181X.2020.00032.3
- Sotoudeh, E., Sangari, M., Bagheri, D., Morammazi, S. and Torfi Mozanzadeh, M., 2020.** Dietary organic acid salts mitigate plant protein induced inflammatory response and improve humoral immunity, antioxidative status and digestive enzyme activities in yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus*. *Aquaculture Nutrition*, 2:1669–1680. DOI:10.1111/anu.13112
- Tian, L.X., Liu, Y.J., Yang, H.J. and Liang, G.Y., 2012.** Effects of different dietary wheat starch levels on growth, feed efficiency and digestibility in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture*

International, 20:283–293.

DOI:10.1007/s10499-011-9456-6

430:1–8.

DOI:10.1016/j.aquaculture.2014.03.023

Tran-Ngoc, K.T., Huynh, S.T., Sendão, J., Nguyen, T.H., Roem, A.J., Verreth, J.A., and Schrama, J.W., 2019. Environmental conditions alter the effect of organic acid salts on digestibility and intestinal morphology in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*, 25(1):134–144. DOI:10.1111/anu.12837

Yan, L. and Qiu-Zhou, X., 2006. Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture*, 256:389-394.

DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.02.011

Zhang, M., Wu, X. and Zhai, S., 2022. Effect of dietary compound acidifiers supplementation on growth performance, serum biochemical parameters, and body composition of juvenile American eel (*Anguilla rostrata*). *Fishes*, 7(4):203-213.

DOI:10.3390/fishes7040203

Zhou, Z., Liu, Y., He, S., Shi, P., Gao, X., Yao, B. and Ringø, E., 2009. Effects of dietary potassium diformate (KDF) on growth performance, feed conversion and intestinal bacterial community of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*).

Aquaculture, 291:89-94.

DOI:10.1016/j.aquaculture.2009.02.043

Zhu, Y., Qiu, X., Ding, Q., Duan, M. and Wang, C., 2014. Combined effects of dietary phytase and organic acid on growth and phosphorus utilization of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *Aquaculture*,