Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics

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

The effect of polyphenol extracted compound from chestnut waste and olive mill wastewater as a feed additive on growth performance, hematological and intestinal histological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Aghil Mansoori Khajehlangi[1], Hamid Allaf Noveirian[2], Seyed Hossein Hoseinifar[3], Mir Masoud Sajjadi[4], Ghasem Ashouri[*5]

1. Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran. E-mail: amiriaghil@yahoo.com
2. Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran. E-mail: navi@guilan.ac.ir
3. Dept. of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: hoseinifar@gau.ac.ir
4. Dept. of Fisheries, Faculty of Natural Resources, University of Guilan, Sowmeh Sara, Iran. E-mail: mmsajjadi@guilan.ac.ir
5. Corresponding Author, Dept. of Sciences and Technologies, University of Sannio, Via De Sanctis, snc, 82100 Benevento, Italy. E-mail: gh.ashouri2023@gmail.com

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 07.16.2023
Revised: 08.01.2023
Accepted: 08.15.2023

Keywords:
Chestnut wood,
Combination of phenolic extracts,
Olive,
Rainbow trout

ABSTRACT

Bio-active substances that are practical and also compatible with the environment, such as phenolic plant extracts, are considered as substances with antimicrobial activity, growth improvement and maturation of farmed aquatics and one of the most important alternatives for antibiotics. So, the aim of this research was to determine the polyphenol extracted mixture from chestnut waste and olive as a feed additive on growth performance and hematological parameters of rainbow trout. For this aim, 300 pieces of juveniles with an average weight of 88 ± 1 grams were distributed in 12 round polyethylene tanks and fed with experimental diets including: 0 (control group), 0.5 (P1), 1 (P2) and 2 (P3) grams of phenolic extracts per kilogram of commercial diet for 60 days. At the end of the experiment, to evaluate the growth performance, biometry was randomly done. Also, blood was completely randomly collected from the caudal stem of the juveniles. The results showed that using polyphenol extracted mixture significantly improved the growth performance in P2 and P3 treatments compared to the control group ($P<0.05$). Nevertheless, the composition of the investigated extracts had no significant effect on the blood parameters and survival of the treatments ($P<0.05$). In general, it can be stated that due to the improvement of growth performance and not causing harmful effects on blood-luck indicators, using polyphenol extracted mixture from chestnut waste and olive as a feed additive in rainbow trout diet can be recommended.

Cite this article: Mansoori Khajehlangi, Aghil, Allaf Noveirian, Hamid, Hoseinifar, Seyed Hossein, Sajjadi, Mir Masoud, Ashouri, Ghasem. 2025. The effect of polyphenol extracted compound from chestnut waste and olive mill wastewater as a feed additive on growth performance, hematological and intestinal histological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 13 (4), 185-199.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2023.21575.1800
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

شاپا چاپی: ۴۲۷X-۲۳۴۵
شاپا آنلاین: ۴۲۸۸-۲۳۴۵

اثر پلی‌فنول ترکیبی استخراج شده از ضایعات شاه‌بلوط و پساب فرآوری زیتون به‌عنوان افزودنی جیره روی عملکرد رشد، شاخص‌های خون‌شناسی و بافت‌شناسی روده در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) جوان

عقیل منصوری خواجه لنگی[۱]، حمید علاف نوریان[۲]، سیدحسین حسینی‌فر[۳]، میرمسعود سجادی[٤]، قاسم عشوری*[٥]

۱. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران. رایانامه: amiriaghil@yahoo.com
۲. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران. رایانامه: navi@guilan.ac.ir
۳. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه: hoseinifar@gau.ac.ir
٤. گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، صومعه‌سرا، ایران. رایانامه: mmsajjadi@guilan.ac.ir
٥. نویسنده مسئول، گروه علوم و فنون، دانشگاه سانیو، ایتالیا. رایانامه: gh.ashouri2023@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۲/۰٤/۲۵
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۲/۰۵/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۰۵/۲٤

واژه‌های کلیدی:
پوست شاه‌بلوط،
ترکیب عصاره‌های فنولی،
زیتون،
قزل‌آلای رنگین‌کمان

چکیده

مواد زیست‌فعال کاربردی و هم‌چنین سازگار با محیط زیست مانند عصاره‌های گیاهی فنولی به عنوان موادی با فعالیت ضدمیکروبی، بهبوددهنده رشد و تکامل آبزیان پرورشی و یکی از مهم‌ترین جایگزین‌ها برای آنتی‌بیوتیک‌ها مطرح می‌باشند. از این‌رو هدف از پژوهش حاضر، تعیین اثرات ترکیبی عصاره پوست شاه‌بلوط و زیتون به عنوان افزودنی جیره روی رشد و شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان بود. برای این منظور، تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای جوان با میانگین وزنی ۱ ± ۸۸ گرم در ۱۲ عدد مخزن گرد پلی‌اتیلنی توزیع گردیدند و به مدت ٦۰ روز با جیره‌های آزمایشی شامل: ۰ (گروه شاهد)، ۰/۵ (P_1)، ۱ (P_2) و ۲ (P_3) گرم ترکیب عصاره‌های فنولی به‌ازای هر کیلوگرم غذا تغذیه شدند. در پایان آزمایش، برای بررسی عملکرد رشد و زیست‌سنجی از ماهیان تمام گروه‌ها انجام شد. هم‌چنین برای بررسی شاخص‌های خون‌شناسی از ساقه دمی ماهیان به‌طور کاملاً تصادفی خون‌گیری صورت گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از ترکیب عصاره‌های فنولی پوست شاه‌بلوط و زیتون به‌طور معناداری سبب بهبود عملکرد رشد تیمارهای P_2 و P_3 در مقایسه با گروه شاهد شدند ($P<۰/۰۵$). با این وجود، ترکیب عصاره‌های مورد بررسی روی شاخص‌های خونی (گلبول قرمز، گلبول سفید، هماتوکریت و هموگلوبین) تیمارها اثر معناداری نداشت ($P>۰/۰۵$). به‌طورکلی می‌توان بیان کرد که با توجه به بهبود عملکرد رشد و عدم ایجاد اثرات مخرب روی

شاخص‌های خون‌شانسی استفاده از عصاره ترکیبی ضایعات شاه‌بلوط و زیتون به عنوان افزودنی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پیشنهاد می‌گردد.

استناد: منصوری خواجه لنگی، عقیل، علاف نوریان، حمید، حسینی‌فر، سیدحسین، سجادی، میرمسعود، عشوری، قاسم (۱۴۰۳). اثر پلی‌فنول ترکیبی استخراج شده از ضایعات شاه‌بلوط و پساب فرآوری زیتون به‌عنوان افزودنی جیره روی عملکرد رشد، شاخص‌های خون‌شناسی و بافت‌شناسی روده در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) جوان. *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۳ (۴)، ۱۹۹-۱۸۵.

DOI: 10.22069/japu.2023.21575.1800

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

بیماری به عنوان یکی از مهم‌ترین مشکلات در تولید پایدار حیوانات پرورشی شناخته شده است که به‌ویژه در آبزی‌پروری می‌تواند باعث خسارت اقتصادی جبران‌ناپذیری شود (۱). در طی سال‌های گذشته، استفاده پیشگیرانه و درمانی از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضدعفونی‌کننده مرسوم بود، که علاوه بر تحمیل هزینه بالا در نتیجه استفاده بیش از حد پیامدهایی مانند پیدایش باکتری‌های مقاوم، باقی‌مانده این مواد در گوشت ماهیان و ریسک آن در تغذیه انسانی، تضعیف سیستم ایمنی و نیز آلودگی‌های زیست‌محیطی را به‌دنبال داشته است (۲ و ۳). هم‌چنین بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضدعفونی‌کننده، حساسیت دارویی و سایر عوارض جانبی نامطلوب را نشان داده‌اند (٤). بنابراین استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد ضدعفونی‌کننده در بسیاری از کشورها به واسطه وضع قوانین، محدود و یا ممنوع شده است (۵). از طرف دیگر، با توجه به توسعه آبزی‌پروری، ایمن‌سازی آبزی و تامین سلامت آن در شرایط پیچیده محیط آبی امری است که ضروری به نظر می‌رسد.

براساس آمار منتشر شده توسط سازمان خواربار جهانی، ایران حدود ۲۰ درصد از تولید پرورش قزل‌آلای دنیا را در سال‌های اخیر به خودش اختصاص داده است (٦). ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان یکی از باارزش‌ترین ماهیان اقتصادی و مهم‌ترین گونه سردآبی در صنعت آبزی‌پروری کشور می‌باشد (۷). در طول دهه گذشته، تولید قزل‌آلا به دلیل شیوع بیماری‌های ویروسی مانند: VHS و IPN به طور قابل‌توجهی کاهش یافته است (۸). یکی از راه‌های مؤثر برای پیشگیری از بیماری‌ها در ماهی‌ها، استفاده از واکسیناسیون است، اما واکسن علاوه بر هزینه بالا، به صورت اختصاصی عمل نموده و تنها در برابر پاتوژن خاص پاسخ می‌دهد (۹)؛ بنابراین توسعه واکسن‌ها برای ماهیان به دلیل اطلاعات محدود از ایمونولوژی ماهی، لزوم مجوز برای آن، استرس دستکاری در زمان تزریق و عدم صرفه اقتصادی محدود شده است. از طرف دیگر، ماهی‌ها در مقایسه با حیوانات خشکی‌زی به دوز آنتی‌ژنی بیش‌تری نیاز دارند (۱۰). بر این اساس، تقویت مکانیسم‌های ایمنی از طریق تجویز محرک‌های ایمنی بالقوه جهت پیشگیری از بیماری‌ها به دلیل طیف وسیع‌تر فعالیت، مقرون به صرفه بودن و سازگاری با محیط زیست توصیه شده است و چنین اقدامات پیشگیرانه‌ای به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها، مواد ضدعفونی‌کننده و واکسن‌ها در نظر گرفته شده‌اند (۱۱)؛ بنابراین، مواد زیست‌فعال کاربردی و هم‌چنین سازگار با محیط زیست مانند عصاره‌های گیاهی یا داروهای گیاهی به عنوان موادی با فعالیت ضدمیکروبی، بهبوددهنده رشد و بلوغ آبزیان پرورشی مطرح شدند و به عنوان یکی دیگر از مهم‌ترین جایگزین‌ها برای آنتی‌بیوتیک‌ها توجه زیادی را به سمت خود معطوف کردند (۱۲). ویژگی‌های ضداسترسی ترکیبات مشتق شده از گیاهان دارویی باعث شده است که تحت شرایط متراکم پرورشی استفاده وسیعی از این مواد ارزان‌قیمت، سازگار با محیط زیست و با کم‌ترین عوارض جانبی در مدیریت سلامت آبزیان صورت گیرد (۱۳). در این میان، پلی‌فنول‌ها گروهی از ترکیبات زیست‌فعال موجود در منابع غذایی گیاهی به‌خصوص انواع میوه‌ها، سبزیجات، غلات کامل، حبوبات، انواع چای سبز و سیاه، قهوه و کاکائو می‌باشند. تاکنون بیش از ۸۰۰۰ نوع از ترکیبات پلی‌فنولیک مورد شناسایی قرار گرفته است؛ اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، استیلبن‌ها، لیگنان‌ها و لیگنان‌های پلیمریک از جمله مهم‌ترین این ترکیبات به شمار می‌روند (١٤). پلی‌فنول یک ترکیب گیاهی است که می‌تواند مانند یک آنتی‌اکسیدان عمل کند و

رادیکال‌های آزاد را که باعث آسیب به سلول‌های بدن و بروز سرطان و بیماری‌های دیگر می‌شوند را خنثی کند (۱۵). این ترکیبات معمولاً در گیاهان عالی یافت می‌شوند که دارای ارزش دارویی و صنعتی می‌باشند. پلی‌فنول‌های طبیعی دارای فعالیت‌های بیولوژیکی متعددی هستند. به عنوان مثال، به‌طور بالقوه دارای پتانسیل دارویی برای درمان بیماری‌هایی مانند: ترمیم زخم، عفونت‌های باکتریایی، جهش‌زایی و اختلالات عصبی می‌باشند (۱٦). از نقطه‌نظر شیمیایی، پلی‌فنول‌ها می‌توانند با اکسیدان‌های تک الکترونی واکنش دهند که از تشکیل رادیکال‌های آزاد در سیستم‌های بیولوژیکی جلوگیری می‌کند. این فرآیندهای اکسیداسیون تک الکترونی به عنوان مراحل کلیدی پلی‌فنول‌ها در نظر گرفته می‌شوند (۱۷)؛ هم‌چنین، توانایی این ترکیبات در تعامل با یون‌های فلزی مانند: Fe^{2+} که قادر به تولید رادیکال‌های آزاد است، در زیست‌فعالی آن‌ها اهمیت زیادی دارد (۱٦).

در فرآوری شاه بلوط مقدار زیادی ضایعات تولید می‌شود که به طور عمده پوسته و غلاف شاه‌بلوط را تشکیل می‌دهند که از زیست‌توده لیگنوسلولزی شامل: سلولز، همی سلولز و لیگنین به همراه مقدار قابل‌توجهی از ترکیبات فنولی با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی تشکیل شده‌اند (۱۸). آنالیز محصولات جانبی در شاه‌بلوط وجود مولکول‌های زیست‌فعال طبیعی پلی‌فنول را نشان داد که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی در پوست، چوب و برگ‌ها می‌باشد. محصول فرعی شاه‌بلوط غنی از الاجیک و گالیک اسید و هم‌چنین تانن‌های هیدرولیز شده است (۱۹).

در سال‌های اخیر تولید و استفاده از محصولات زیتون رونق پیدا کرده است. پلی‌فنول‌ها در محصولات فرعی کشاورزی به وفور یافت می‌شوند و ممکن است نمایانگر اجزای دارای ارزش افزوده باشند که می‌توانند به عنوان آنتی‌کسیدان طبیعی برای افزودنی غذا استفاده شوند (۲۰)؛ هم‌چنین، ثابت شده است که پساب فرآوری شده زیتون نیز غنی از هیدروکسی تیروزول و الئوروپین است (۲۱).

از آن‌جایی‌که پساب فرآوری زیتون و شاه‌بلوط غنی از ترکیبات پلی‌فنولیک است، این دو گیاه دارای خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۱۹، ۲۰، ۲۱) و با توجه به آمار وزارت جهاد کشاورزی سالانه حدود ۳۰ تن شاه‌بلوط در استان گیلان (رویشگاه اصلی شاه بلوط در کشور) و ۱۲۰ هزار تن زیتون در کشور تولید می‌شود که می‌توان از ضایعات این گیاهان جهت تولید عصاره‌های گیاهی با خاصیت فنولی جهت استفاده در خوراک آبزیان استفاده کرد، مطالعه حاضر با هدف بررسی ترکیبی عصاره پوست شاه‌بلوط و زیتون روی رشد، شاخص‌های خونی و مطالعات بافت‌شناسی روده ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان طرح‌ریزی شد.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان انجام آزمایش: این مطالعه به مدت ۸ هفته در پایلوت مزرعه دشت آبی زیر مجموعه شرکت فرادانه (رستم‌آباد- چهارمحال و بختیاری) انجام شد.

روش انجام آزمایش: در این آزمایش تعداد ۳۰۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان با میانگین وزنی ۱ ± ۸۸ گرم در ۱۲ عدد مخزن گرد پلی‌اتیلنی ۳۰۰ لیتری با قطر ۸٤ سانتی‌متر و ارتفاع ٦۰ سانتی‌متر (حجم آبگیری ۲۷۵ لیتر با آب در جریان ۰/٤ لیتر بر ثانیه) و در قالب طرح کاملاً تصادفی توزیع شد. در هر مخزن تعداد ۲۵ قطعه ماهی ذخیره‌سازی توزیع گردیدند. ماهی‌ها به‌مدت دو هفته قبل از شروع آزمایش با شرایط آزمایشگاهی سازگار شدند. میزان اکسیژن محلول و دمای آب به صورت روزانه بررسی شدند. ماهی‌ها تا حد سیری ظاهری غذادهی شدند و میزان غذای مصرفی نیز اندازه‌گیری گردید.

تهیه جیره‌های آزمایشی: برای تغذیه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان از خوراک اکسترود تجاری ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان کارخانه فرادانه (شهرکرد، ایران) استفاده شد. برای آماده‌سازی جیره‌های آزمایشی، از جیره پایه، با افزودن عصاره (پلی‌فنول ترکیبی استخراج شده از ضایعات شاه‌بلوط و پساب فرآوری زیتون با نسبت ۹ به ۱) استفاده گردید.

به‌منظور تهیه ترکیب پلی‌فنولی مورد استفاده در پژوهش حاضر از دو محصول تجاری به نام‌های Silvafeed®ATX (شرکت Silvateam، Cuneo، ایتالیا) که حاوی عصاره چوب شاه بلوط بود و (PhenoFeed® شرکت PhenoFarm، Rieti، ایتالیا) که حاوی عصاره زیتون بود، تهیه شد. محتویات پلی‌فنولی عصاره زیتون شامل: اولئوروپئین، هیدروکسی تیروزول و مشتقات آنها بود. هم‌چنین ترکیبات فنولی موجود در پوسته شاه‌بلوط حاوی تانن، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک بود.

جهت تهیه جیره‌های غذایی آزمایشی، مقدار ۰/۵ (P_1)، ۱ (P_2) و ۲ (P_3) گرم **به** ازای هر کیلوگرم غذا، از ترکیب فنولی استفاده شد (۲۰). افزودنی‌ها روی جیره‌های غذایی اسپری و سپس از محلول ژلاتین ٤ درصد (۸۰ میلی‌لیتر به ازای ۱ کیلوگرم جیره) به‌عنوان پوشاننده این افزودنی‌ها استفاده شد (۲۲). جیره‌های اسپری شده و مرطوب در هوای آزاد محیط کارگاه و با رعایت نکات بهداشتی خشک شدند و در یخچال در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. لازم به ذکر است جهت از بین بردن اثر ژلاتینه جیره پایه (گروه شاهد) نیز به همان میزان محلول ژلاتین اسپری گردید. در این پژوهش، جیره‌های غذایی با سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد.

بررسی شرایط فیزیکوشیمیایی آب: در طول کل دوره آزمایش دما، اکسیژن وpH با استفاده از دستگاه مولتی‌متر قابل‌حمل (Lutron، ساخت ایوان) سنجش شذ (جدول ۱). هم‌چنین، دوره نوری طی دوره غذادهی تحت شرایط طبیعی در نظر گرفته شد.

جدول ۱- میانگین شاخص‌های فیزیکوشیمیایی اندازه‌گیری‌شده در طی دوره پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان.

Table 1. Mean physicochemical indices measured during the rearing period of juvenile rainbow trout.

شاخص	اکسیژن (میلی‌گرم در لیتر)	پی‌اچ	دما (درجه سانتی‌گراد)	آمونیاک کل (میلی‌گرم در لیتر)
مقدار	۷/۲ ± ۰/۸	۷/٦ ± ۰/۵	۱٦/۰ ± ۰/۷	۱/۲ ± ۰/۳

جدول ۲- آنالیز تقریبی جیره تجاری شرکت فرادانه.

Table 2. Proximate analysis of the commercial diet from Faradaneh Company.

	پروتئین	چربی	خاکستر	رطوبت
درصد	٤۰/٦	۱٤/۵	۱۰/۱	۷/۹

بررسی شاخص‌های رشد و بازماندگی: در تمام تیمارها زیست‌سنجی هر دوهفته یک‌بار و هم‌چنین در ابتدا و انتهای دوره انجام شد. طول ماهیان با دقت ۱ میلی‌متر و وزن بدن با دقت ۰/۱ میلی‌گرم جهت بررسی عملکرد رشد ثبت گردید. ۲٤ ساعت قبل از زیست‌سنجی، تغذیه متوقف؛ سپس، ماهیان داخل عصاره گل میخک با غلظت ۵ گرم به ازای ۱۰ لیتر آب بیهوش گردیدند (۲۳) و بلافاصله پس از بیهوشی، عملیات زیست‌سنجی انجام شد. فرمول‌های مورد استفاده برای محاسبه شاخص‌های رشد در زیر ارائه گردیده است (۲٤):

۱۰۰ × [(گرم) وزن اولیه بدن/ ((گرم) وزن اولیه بدن – (گرم) وزن نهایی بدن)] = (درصد) درصد افزایش وزن بدن

/ (لگاریتم طبیعی وزن اولیه بدن – لگاریتم طبیعی وزن نهایی بدن)] = (روز/درصد وزنی) نرخ رشد ویژه

۱۰۰ × [طول دوره پرورش بر حسب روز

[(گرم) افزایش وزن / (گرم) مقدار غذای مصرف شده] = ضریب تبدیل غذایی

طول نهایی ^{3}(سانتی‌متر) / ۱۰۰ × وزن نهایی (گرم) = (گرم بر سانتی‌مترمکعب) ضریب چاقی

۱۰۰× (تعداد ماهیان در انتهای دوره آزمایش– تعداد ماهیان در ابتدای دوره آزمایش) = (درصد) بازماندگی

خونگیری و بررسی شاخص‌های خون‌شناسی: در پایان دوره، تغذیه به مدت ۲٤ ساعت متوقف شد. سپس، از هر مخزن سه قطعه ماهی صید و با استفاده از عصاره میخک (۰/۵ گرم در لیتر) بیهوش شدند. خون‌گیری از ساقه دمی ماهیان با استفاده از سرنگ انجام شد. نمونه‌های گرفته شده داخل لوله‌های هپارینه (ضد انعقاد خون) ریخته شدند. نمونه‌های هپارینه بلافاصله در مخزن حاوی یخ قرار داده شدند و بلافاصله برای سنجش شاخص‌های خونی به آزمایشگاه خون‌شناسی منتقل شدند (۲۵).

در پژوهش حاضر به منظور بررسی شاخص‌های خونی چهار شاخص اصلی شامل: تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، تعاد گلبول‌های قرمز (RBC)، هموگلوبین (Hb) و هماتوکریت (Het) مورد ارزیابی قرار گرفت. شمارش گلبول‌های قرمز و سفید، نمونه خون‌ها پس از همگن‌سازی به کمک پیپت ملانژور و محلول رقیق‌کننده رنگی ریس، روی لام هموسیتومتر نئوبار دو حجره‌ای قرار داده شدند. در این پژوهش، تعداد گلبول‌های قرمز و سفید در میلی‌متر مکعب خون برای هر نمونه در دو خانه محاسبه شدند (۲٦ و ۲۷). برای محاسبه درصد هماتوکریت، لوله‌های مویینه با میکروهماتوکریت (مدل D-78532 Tuttlingen. شرکت Hettich آلمان) با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۷ دقیقه، درصد هماتوکریت هر نمونه خون روی خط‌کش مخصوص محاسبه گردید (۲۸). مقدار هموگلوبین هر نمونه خون به روش کالریمتریک سیانو هموگلوبین و به وسیله محلول معرف با طول موج ٥٤۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/VIS– ٦٥۰٥، شرکت Jenway ساخت انگلیس) و با استفاده از کیت پارس آزمون ساخت ایران، غلظت هموگلوبین بر حسب گرم در دسی‌لیتر محاسبه شد (۲۹).

روش آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها: این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. همه اطلاعات جمع‌آوری‌شده از بررسی‌های آزمایشگاهی ثبت شد. داده‌های به‌دست آمده به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد گزارش شدند. پس از بررسی نرمال بودن داده‌های حاصل با استفاده از آزمون کولموگروف–اسمیرنوف، برای یافتن تفاوت معنی‌دار بین تیمارها از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) تحت نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ (Chicago, Illinois, USA) در سطح خطای ۵ درصد انجام گردید. و آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد (۳۰). تمامی جدول‌ها و شکل‌ها در محیط آفیس نسخه ۲۰۱٦ (Word and Excel) رسم گردید.

نتایج و بحث

عملکرد رشد و درصد بازماندگی: نتایج به‌دست آمده از بررسی شاخص‌های رشد ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان تغذیه شده با جیره‌های حاوی

سطوح متفاوت ترکیب عصاره‌های گیاهی ضایعات شاه‌بلوط و زیتون در جدول ۳ آورده شده است. نتایج حاصل از این جدول نشان داد که بین وزن اولیه تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد تفاوت معناداری وجود نداشت (P>۰/۰۵). در شاخص وزن نهایی و درصد افزایش وزن بدن بین گروه شاهد و تیمار P_1 تفاوت معناداری دیده نشد (P>۰/۰۵). با این‌حال، در ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه بین تمامی تیمارها و گروه شاهد اختلاف معناداری مشاهده شد (P<۰/۰۵). با این وجود پس از ٦۰ روز تغذیه با جیره‌های آزمایشی، در ضریب چاقی و درصد بازماندگی تیمارها و گروه شاهد تفاوت معناداری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

جدول ۳- عملکرد رشد و درصد بازماندگی در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی سطوح متفاوت ترکیب عصاره‌های گیاهی از ضایعات شاه‌بلوط و زیتون به مدت ٦۰ روز.

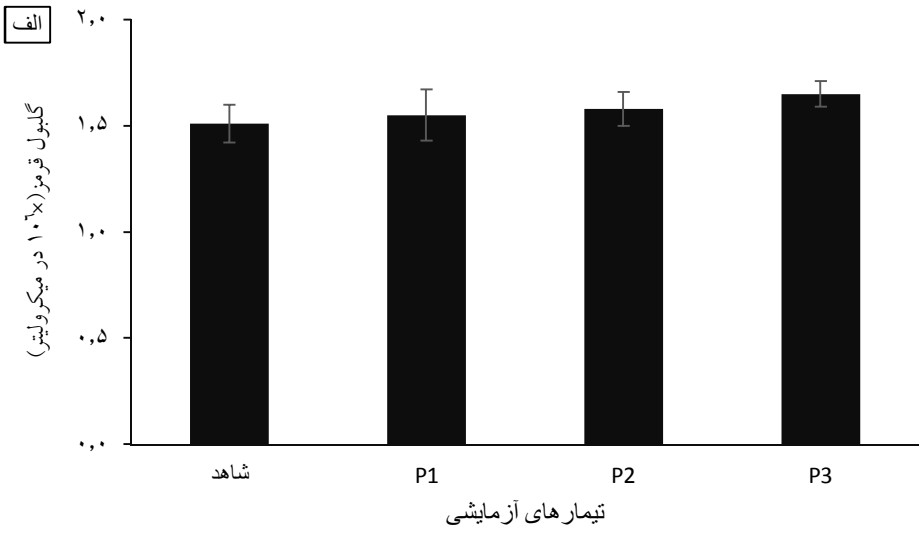
Table 3. Growth performance and survival rate in rainbow trout fed with diets containing different levels of a combination of plant extracts from chestnut and olive waste for 60 days.

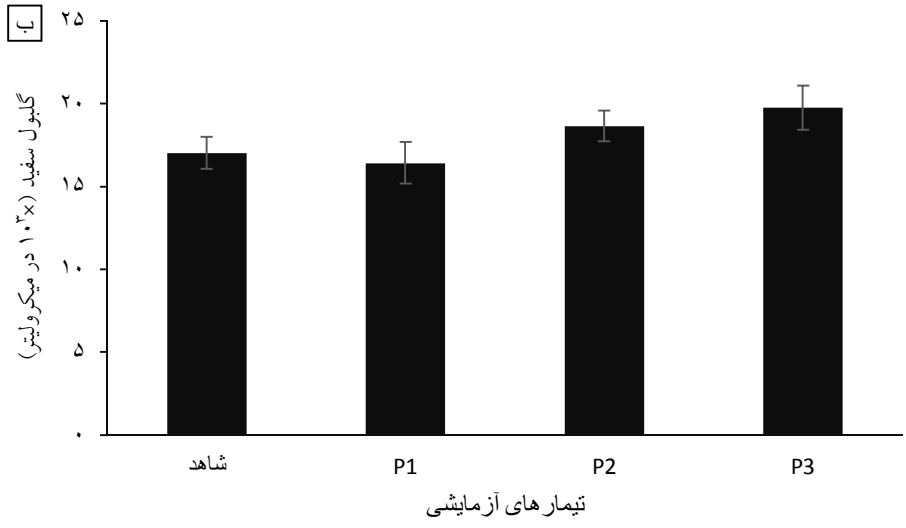
شاخص‌های رشد	گروه شاهد	P_1	P_2	P_3	معناداری (P-value)
وزن اولیه (گرم)	۸۹/۰۷ ± ۱/۱٦	۸۷/۷۳ ± ۰/۵۳	۸۸/۰۰ ± ۰/۹۲	۸۸/۲٦ ± ۰/۲۷	۰/٦۸۱
وزن نهایی (گرم)	۲۲۳/۰٦ ± ۰/۸۳^{b}	۲۲۳/۷٦±۱/۷۱^{b}	۲۳۱/۵۰ ±۱/۵۳^{a}	۲۳۰/۰۳ ± ۰/۹٤^{a}	۰/۰۱۰
درصد افزایش وزن بدن	۱۵۰/۵۰±۲/٤۹^{b}	۱۵۵/۰٦±۱/۱۸^{b}	۱٦۳/۰٦±۱/۲۷^{a}	۱٦۰/٦۰±۰/۳۲^{a}	۰/۰۰۲
نرخ رشد ویژه (درصد/روز)	۱/٦٤ ± ۰/۰۲^{c}	۱/٦۷ ± ۰/۰۱^{b}	۱/۷۱ ± ۰/۰۱^{a}	۱/۷۱ ± ۰/۰۰^{a}	۰/۰۰۱
ضریب تبدیل غذایی	۰/۹٤ ± ۰/۰۲^{a}	۰/۹۰ ± ۰/۰۱^{a}	۰/۸۷ ± ۰/۰۱^{b}	۰/۸۸ ± ۰/۰۱^{b}	۰/۰۲۱
ضریب چاقی (درصد)	۲۲/۹٦ ± ۰/۷۱	۲۳/٦۲ ± ۰/۸۷	۲٦/۰۹ ± ۰/۷۳	۲۵/۱۳ ±۱/٤۲	۰/۱۵٤
درصد بازماندگی (درصد)	۹۷/۳۳ ± ۱/۳۳	۹۷/۳۳ ± ۱/۳۳	۹۸/٦٦ ± ۱/۳۳	۹۸/٦٦ ± ۱/۳۳	۰/۸۰۲

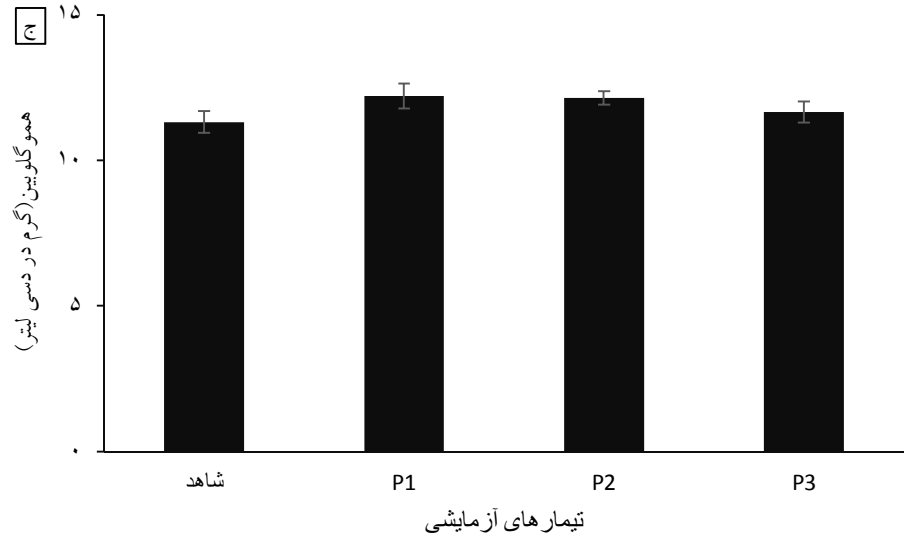
* عدم وجود حروف لاتین نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنادار در هر ردیف می‌باشد (P<۰/۰۵)

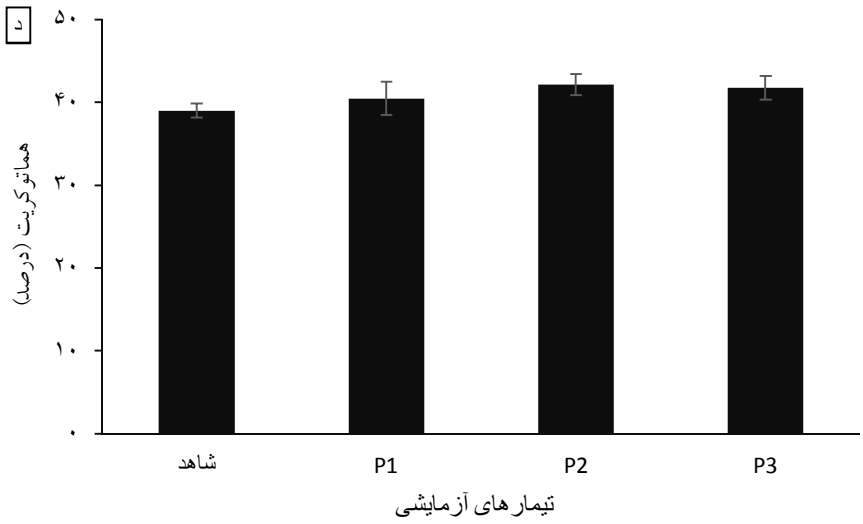
** P_1: ۰/۵ گرم ترکیب عصاره‌های گیاهی به ازای کیلوگرم جیره تجاری، P_2: ۱ گرم ترکیب عصاره‌های گیاهی به ازای کیلوگرم جیره تجاری، P_3: ۲ گرم ترکیب عصاره‌های گیاهی به ازای کیلوگرم جیره تجاری

شاخص‌های خون‌شناسی: نتایج به دست آمده از بررسی شاخص‌های خون‌شناسی ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح متفاوت ترکیب عصاره‌های گیاهی ضایعات شاه‌بلوط و زیتون در شکل ۱ آورده شده است. نتایج حاصل از این شکل نشان داد که ترکیب این عصاره‌های گیاهی نتوانست سبب ایجاد تغییر معناداری در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه شاهد شود (P>۰/۰۵).


الف
گلبول قرمز(۱۰^۶x در میکرولیتر)
۲,۰
۱,۵
۱,۰
۰,۵
۰,۰
شاهد
P1
P2
P3
تیمارهای آزمایشی


ب
گلبول سفید (۱۰^۳x در میکرولیتر)
۲۵
۲۰
۱۵
۱۰
۵
۰
شاهد
P1
P2
P3
تیمارهای آزمایشی


ج
هموگلوبین(گرم در دسی لیتر)
۱۵
۱۰
۵
۰
شاهد
P1
P2
P3
تیمارهای آزمایشی



شکل ۱- شاخص‌های خون‌شناسی: الف) گلبول قرمز، ب) گلبول سفید، ج) هموگلوبین، د) هماتوکریت در ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان جوان تغذیه شده با جیره غذایی حاوی سطوح متفاوت ترکیب عصاره‌های گیاهی از ضایعات شاه بلوط و زیتون به مدت ٦۰ روز.
عدم وجود حروف لاتین نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنادار در هر ستون می‌باشد (P>۰/۰۵)
P_1: ۰/۵ گرم ترکیب عصاره‌های گیاهی به ازای کیلوگرم جیره تجاری، P_2: ۱ گرم ترکیب عصاره‌های گیاهی به ازای کیلوگرم جیره تجاری، P_3: ۲ گرم ترکیب عصاره‌های گیاهی به ازای کیلوگرم جیره تجاری

Figure 1. Hematological indices: (a) Red blood cells, (b) White blood cells, (c) Hemoglobin, (d) Hematocrit in juvenile rainbow trout fed with diets containing different levels of a combination of plant extracts from chestnut and olive waste for 60 days.
The absence of Latin letters indicates no significant difference in each column (P>0.05).
P1: 0.5 g of plant extract combination per kg of commercial diet, P2: 1 g of plant extract combination per kg of commercial diet, P3: 2 g of plant extract combination per kg of commercial diet.

به طورکلی مواد مؤثر گیاهی زیست‌فعال مانند پلی‌فنول‌ها به‌طور مؤثری سبب افزایش رشد و تقویت سیستم ایمنی بدن میزبان می‌گردند و این اثرات را از طریق تعامل (اتصال حلقه‌های فنولی) با پروتئین‌ها و مولکول‌هایی مانند سایتوکین‌ها اعمال می‌نمایند (۳۱). امروزه، درک چگونگی اثرگذاری ترکیبات فنولی یکی از مباحث مهم تحقیقاتی است، زیرا مشخص شده است که استفاده از ترکیبات پلی‌فنولی استخراج شده از منابع مختلف، تفاوت‌هایی را در نتایج به دست آمده نشان می‌دهد. به عنوان مثال، اثرات پلی‌فنول‌ها بر عملکرد رشد در بین گونه‌های مختلف ماهیان متفاوت است. در مطالعه حاضر، بهترین عملکرد رشد شامل: وزن نهایی، درصد افزایش وزن، ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه به‌طور معنادار در تیمارهای P2 و P3 مشاهده شد. پژوهش‌گران ثابت کردند که عملکرد رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان پس از تغذیه با جیره مکمل‌سازی شده با پلی‌فنول‌های مختلف طبیعی (منابعی مانند: زردچوبه، پوست انار، ضایعات زیتون، دانه و تفاله انگور)، متفاوت است؛ بو در اکثر موارد سبب افزایش سرعت رشد و بهبود کارایی تغذیه می‌گردد (۱۹، ۲۱، ۳۲، ۳۳، ۳٤، ۳۵، ۳٦). بهبود رشد با تجویز عصاره‌های گیاهی با خاصیت فنولیک در پژوهش حاضر ممکن است به دلیل بهبود سلامت و عملکرد روده و یا تحریک محور سوماتوتروپیک (در این محور، سلول‌های سوماتوتروپیک هورمون رشد را در پاسخ به هورمون آزادکننده هورمون رشد یا سوماتوتروپین (GHRH) آزاد می‌کنند) باشد، زیرا، عصاره‌های گیاهی بر سوخت و ساز بدن ماهیان تأثیرات مثبت می‌گذارند، در این راستا، جیره غذایی حاوی عصاره‌های گیاهی با خاصیت فنولی باعث

افزایش عملکرد رشد در فیل‌ماهی (*H. huso*) شد (۳۷). احمدی‌فر و همکاران (۲۰۱۱)، اثر ترکیب فنولی تیمول-کارواکرول پونه کوهی را روی رشد ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی کردند و گزارش کردند که وزن نهایی و نرخ رشد ویژه با افزایش سطح پونه کوهی افزایش یافت و ضریب تبدیل غذایی با افزایش سطح این ترکیب فنولی کاهش پیدا کرد (۳۸). در تطابق با نتایج حاصل از پژوهش حاضر می‌توان به پژوهش‌های، پژوهش‌گران اشاره نمود (۲۰، ۳۳، ۳۷ و ۳۹)، که همگی آن‌ها گزارش کردند زمانی که ماهیان با جیره‌های حاوی عصاره‌های گیاهی با خاصیت فنولی تغذیه شدند، سرعت رشد و کارایی تغذیه بهبود یافت. با این وجود، در پژوهش حاضر در ضریب چاقی و درصد بازماندگی گروه شاهد و تیمارها تفاوت معناداری مشاهده نشد. عملکرد رشد ماهیان تغذیه شده با عصاره‌های گیاهی به گونه و سطح مصرف عصاره بستگی دارد. به علاوه، اثرات پلی‌فنول‌ها نیز بر عملکرد رشد ماهیان متنوع و وابسته به گونه است (۳۷). به طوری‌که پژوهش‌های گذشته نشان داد که این ترکیبات می‌توانند دارای اثرات مثبت و منفی و یا فاقد هیچ گونه اثراتی روی عملکرد رشد قزل‌آلای رنگین‌کمان باشند (۳٦، ٤٠، ٤١، ٤٢). چرا که عوامل مختلفی مانند گونه ماهی، اندازه ماهی، شرایط آزمایشی، دوز و مدت زمان تجویز آن‌ها می‌تواند روی نتایج مؤثر باشند (۲٤). اگرچه مشخص شده است که غلظت بالای پلی‌فنول‌های جیره ممکن است منجر به کاهش مصرف خوراک، قابلیت هضم و سرعت رشد در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شود (۳۳ و ۳۵)؛ ولی در پژوهش حاضر، در سطوح بالاتر اثرات منفی مشاهده نشد و این موضوع ممکن است نشان‌دهنده سطح بهینه مصرف این عصاره‌های گیاهی باشد. با این وجود، بدون مطالعات بیش‌تر در سطح مولکولی نمی‌توان اظهارنظر دقیقی در این زمینه ارائه داد.

به‌طور کلی درصد بازماندگی در بررسی‌ها نشان‌دهنده ایمنی در مقابل عوامل بیماری‌زا و استرس‌های محیطی می‌باشد درصد بازماندگی ماهیان در این پژوهش در تمامی تیمارها تفاوت معناداری با گروه شاهد نداشت و در کل دوره تلفات مشاهده شده در تمامی گروه‌ها به‌طور تقریبی مشابه یکدیگر بود. اگرچه، از نظر عددی تلفات در تیمارهای P_2 و P_3 کم‌تر از گروه شاهد و تیمار P_1 بود؛ ولی این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود. شاید بتوان این موضوع را به کیفیت بالای آب و فراهم بودن شرایط بهینه پرورش و نگهداری نسبت داد، این نتایج با نتایج پژوهش‌های، پژوهش‌گران در ارتباط با عدم تأثیر معنی‌دار محرک‌های رشد و ایمنی در درصد بازماندگی میزبان بدون مواجهه با هیچ عامل بیماری‌زا یا چالش محیطی مطابقت دارد (٤٣، ٤٤، ٤٥).

پارامترهای خون‌شناسی ابزار مفیدی برای ارزیابی سلامت ماهی هستند، زیرا به استرس، وضعیت تغذیه و آلودگی محیطی پاسخ می‌دهند (٤٦ و ٤٧). افزایش گلبول قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت خون حیوان پس از استفاده از جیره حاوی افزودنی‌ها ممکن است به دلیل افزایش خون‌سازی و یا کاهش سرعت همولیز باشد که حرکت گازهای تنفسی را در میزبان افزایش می‌دهد. زیرا، پارامترهای خونی ماهی تحت‌تأثیر عوامل مختلفی از جمله گونه، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی و رژیم غذایی قرار دارد (٤٨). به عنوان مثال، کیفیت و کمیت غذا، ترکیبات غذایی، منابع پروتئینی، ویتامین‌ها، مواد افزودنی قرار می‌گیرد (٤٩). مطالعه حاضر نشان داد که ترکیب عصاره‌های گیاهی افزوده شده با خاصیت فنولی به جیره‌های آزمایشی اثر معناداری در شاحص‌های خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان نداشت که با یافته‌های حاصل از مطالعه روی سیچلاید گورخری (۱۹) و فیل‌ماهی (۳۷) که با جیره‌های غذایی حاوی عصاره‌های گیاهی با خاصیت فنولی تغذیه شده بودند، مطابقت دارد. افزودن تیمول کارواکرول با خاصیت فنولی به جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیری بر غلظت هماتوکریت، هموگلوبین، گلبول‌های قرمز و

گلبول سفید نداشت (۳۸). در تضاد با نتایج حاصل از این پژوهش، گزارش کردند که کپورماهیانی که با جیره‌های حاوی ترکیبات فنولی تغذیه شده بودند، به‌طور معناداری دارای گلبول سفید و قرمز بیش‌تری در مقایسه با گروه شاهد بودند (۲۰)، که این موضوع ممکن است نشان‌دهنده تفاوت‌های احتمالی درون‌گونه‌ای در مورد پاسخ‌های خونی به تجویز عصاره‌های گیاهی فنولیک در ماهیان باشد. زیرا، نتایج می‌توانند تحت‌تأثیر عوامل مختلفی مانند گونه ماهی، اندازه ماهی، شرایط آزمایشی، دوز و مدت زمان تجویز آن‌ها می‌تواند متفاوت باشند (۲٤).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی، نتایج نشان داد که استفاده از سطوح متفاوت ترکیب عصاره‌های ضایعات شاه بلوط و زیتون اگرچه روی شاخص‌های خونی ماهیان قزل‌آلای جوان اثر معناداری نداشت، ولی سبب بهبود عملکرد رشد شد. با این‌حال، اظهارنظر دقیق‌تر در ارتباط با چگونگی اثر این افزودنی غذایی به مطالعات بیش‌تری نیاز دارد.

منابع

1. Syahidah, A., Saad, C. R., Daud, H. M., & Abdelhadi, Y. M. (2015). Status and potential of herbal applications in aquaculture: A review.
2. Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433, 50-61.
3. Rico, A., Dimitrov, M. R., Van Wijngaarden, R. P., Satapornvanit, K., Smidt, H., & Van den Brink, P. J. (2014). Effects of the antibiotic enrofloxacin on the ecology of tropical eutrophic freshwater microcosms. *Aquatic Toxicology*, 147, 92-104.
4. Citarasu, T. (2010). Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18 (3), 403-414.
5. Cabello, F. C. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental microbiology*, 8 (7), 1137-1144.
6. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). The state of world fisheries and aquaculture 2020: Sustainability in action. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
7. Alishahi, M., Ranjbar, M. M., Ghorbanpour, M., Peyghan, R., Mesbah, M., & Razi, J. M. (2010). Effects of dietary Aloe vera on some specific and nonspecific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). *International Journal of Veterinary Research*, 4 (3), 189-195.
8. Soltani, M., Rouholahi, S., Ebrahimzadeh Mousavi, H. A., Abdi, K., Zargar, A., & Mohamadian, S. (2014). Genetic diversity of Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNV) in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 34 (5), 156-164.
9. Dhar, A. K., Manna, S. K., & Thomas Allnutt, F. C. (2014). Viral vaccines for farmed finfish. *Virusdisease*, 25, 1-17.
10. Muktar, Y., Tesfaye, S., & Tesfaye, B. (2016). Present status and future prospects of fish vaccination: a review. *J. Vet. Sci. Technol*. 7 (02), 299.
11. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., & Heo, M. S. (2011). Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317 (1-4), 1-15.
12. Shakya, A. K., & Shukla, S. (2017). Protective effect of Sharbat-e-Deenar against acetaminophen-induced hepatotoxicity in experimental animals. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 37 (3), 387-392.

13. Shakya, A. K. (2016). Medicinal plants: Future source of new drugs. *International journal of herbal medicine*, 4 (4), 59-64.
14. Pietta, P., Minoggio, M., & Bramati, L. (2003). Plant polyphenols: Structure, occurrence and bioactivity. *Studies in natural products chemistry*, 28, 257-312.
15. Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., & Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50 (3), 586-621.
16. Tückmantel, W., Kozikowski, A. P., & Romanczyk, L. J. (1999). Studies in polyphenol chemistry and bioactivity. 1. Preparation of building blocks from (+)-catechin. Procyanidin formation. Synthesis of the cancer cell growth inhibitor, 3-O-galloyl-(2 R, 3 R)-epicatechin-4β, 8-[3-O-galloyl-(2 R, 3 R)-epicatechin]. *Journal of the American Chemical Society*, 121 (51), 12073-12081.
17. Huang, M. T., Ho, C. T., & Lee, C. Y. (1992). *Phenolic compounds in food and their effects on health II* (Vol. 2, p. 507). Washington, DC: American Chemical Society.
18. Vázquez, G., González-Alvarez, J., Santos, J., Freire, M. S., & Antorrena, G. (2009). Evaluation of potential applications for chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial crops and products*, 29 (2-3), 364-370.
19. Hoseinifar, S. H., Jahazi, M. A., Nikdehghan, N., Van Doan, H., Volpe, M. G., & Paolucci, M. (2020). Effects of dietary polyphenols from agricultural by-products on mucosal and humoral immune and antioxidant responses of convict cichlid (*Amatitlania nigrofasciata*). *Aquaculture*, 517, 734790.
20. Jahazi, M. A., Hoseinifar, S. H., Jafari, V., Hajimoradloo, A., Van Doan, H., & Paolucci, M. (2020). Dietary supplementation of polyphenols positively affects the innate immune response, oxidative status, and growth performance of common carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture*, 517, 734709.
21. Hoseinifar, S. H., Shakouri, M., Yousefi, S., Van Doan, H., Shafiei, S., Yousefi, M., ... & Faggio, C. (2020). Humoral and skin mucosal immune parameters, intestinal immune related genes expression and antioxidant defense in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed olive (*Olea europea* L.) waste. *Fish & shellfish immunology*, 100, 171-178.
22. Zakariaee, H., Sudagar, M., Hosseini, S. S., Paknejad, H., & Baruah, K. (2021). In vitro Selection of Synbiotics and in vivo Investigation of Growth Indices, Reproduction Performance, Survival, and Ovarian Cyp19α Gene Expression in Zebrafish *Danio rerio*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 758758.
23. Ranjbar, M., Mohammad Nejad, M., & Ghomi, M. (2020). Effect of Different Salinity on Growth Factors, Survival and Hematology Indices of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Physiology and Development Quarterly*, 14 (1), 87-98.
24. Ashouri, G., Soofiani, N. M., Hoseinifar, S. H., Jalali, S. A. H., Morshedi, V., Van Doan, H., & Mozanzadeh, M. T. (2018). Combined effects of dietary low molecular weight sodium alginate and *Pediococcus acidilactici* MA18/5M on growth performance, haematological and innate immune responses of Asian sea bass (*Lates calcalifer*) juveniles. *Fish & shellfish immunology*, 79, 34-41.
25. Witeska, M., Kondera, E., Ługowska, K., & Bojarski, B. (2022). Hematological methods in fish–Not only for beginners. *Aquaculture*, 547, 737498.
26. Gao, Z., Wang, W., Abbas, K., Zhou, X., Yang, Y., Diana, J. S., ... & Sun, Y. (2007). Haematological characterization of loach Misgurnus anguillicaudatus: comparison among diploid, triploid and tetraploid specimens. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 147 (4), 1001-1008.
27. Anderson, D., & Klontz, G. W. (1965, December). Basic haematology for the fish culturist. In *Northwest Fish Culture Conference* (Vol. 16, pp. 38-41).

28. Ellis, A. E. (1999). Immunity to bacteria in fish. *Fish & shellfish immunology*, 9 (4), 291-308.
29. Larsen, H. N., & Snieszko, S. F. (1961). Comparison of various methods of determination of hemoglobin in trout blood. *The Progressive Fish-Culturist*, 23 (1), 8-17.
30. Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F tests. *biometrics*, 11 (1), 1-42.
31. Ajikumar, P. K., Tyo, K., Carlsen, S., Mucha, O., Phon, T. H., & Stephanopoulos, G. (2008). Terpenoids: opportunities for biosynthesis of natural product drugs using engineered microorganisms. *Molecular pharmaceutics*, 5 (2), 167-190.
32. Akdemir, F., Orhan, C., Tuzcu, M., Sahin, N., Juturu, V., & Sahin, K. (2017). The efficacy of dietary curcumin on growth performance, lipid peroxidation and hepatic transcription factors in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) reared under different stocking densities. *Aquaculture Research*, 48 (8), 4012-4021.
33. Avazeh, A., Adel, M., Shekarabi, S. P. H., Emamadi, H., Dawood, M. A., Omidi, A. H., & Bavarsad, M. (2021). Effects of dietary pomegranate peel meal on the growth performance, blood indices, and innate immune response of rainbow trout. *Annals of Animal Science*, 21 (1), 233-244.
34. Mousavi, S., Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Alizadeh-Salteh, S., Khani Oushani, A., Firouzamandi, M., & Mardani, K. (2020). Administration of grape (*Vitis vinifera*) seed extract to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) modulates growth performance, some biochemical parameters, and antioxidant-relevant gene expression. *Fish physiology and biochemistry*, 46, 777-786.
35. Peña, E., Badillo-Zapata, D., Viana, M. T., & Correa-Reyes, G. (2020). Use of grape pomace in formulated feed for the rainbow trout fry, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Journal of the World Aquaculture Society*, 51 (2), 542-550.
36. Yonar, M. E., Yonar, S. M., İspir, Ü., & Ural, M. Ş. (2019). Effects of curcumin on haematological values, immunity, antioxidant status and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against Aeromonas salmonicida subsp. achromogenes. *Fish & shellfish immunology*, 89, 83-90.
37. Safari, R., Hoseinifar, S. H., Imanpour, M. R., Mazandarani, M., Sanchouli, H., & Paolucci, M. (2020). Effects of dietary polyphenols on mucosal and humoral immune responses, antioxidant defense and growth gene expression in beluga sturgeon (*Huso huso*). *Aquaculture*, 528, 735494.
38. Ahmadifar, E., Falahatkar, B., & Akrami, R. (2011). Effects of dietary thymol-carvacrol on growth performance, hematological parameters and tissue composition of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Applied Ichthyology*, 27 (4), 1057-1060.
39. Ahmadi, A., Bagheri, D., Hoseinifar, S. H., Morshedi, V., & Paolucci, M. (2022). Beneficial role of polyphenols as feed additives on growth performances, immune response and antioxidant status of *Lates Calcarifer* (Bloch, 1790) juveniles. *Aquaculture*, 552, 737955.
40. Kohshahi, A. J., Sourinejad, I., Sarkheil, M., & Johari, S. A. (2019). Dietary cosupplementation with curcumin and different selenium sources (nanoparticulate, organic, and inorganic selenium): influence on growth performance, body composition, immune responses, and glutathione peroxidase activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish physiology and biochemistry*, 45, 793-804.
41. Torno, C., Staats, S., de Pascual-Teresa, S., Rimbach, G., & Schulz, C. (2019). Effects of resveratrol and genistein on growth, nutrient utilization and fatty acid composition of rainbow trout. *animal*, 13 (5), 933-940.
42. Naderi Farsani, M., Meshkini, S., & Manaffar, R. (2021). Growth performance, immune response, antioxidant capacity and disease

resistance against *Yersinia ruckeri* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as influenced through singular or combined consumption of resveratrol and two-strain probiotics. *Aquaculture Nutrition*, 27 (6), 2587-2599.

43. Akrami, R., Hajimoradloo, A., Matinfar, A., Abedian Kenari, A., & Alimohammadi, A. (2009). The effects of dietary inulin on growth performance, nutrition, survival and body composition of juvenile beluga (*Huso huso*). *Journal of World Aquaculture Society*, 40 (6), 771-779.
44. Shafiqi, T., & Bahrkazmi, M. (2017). The effect of different levels of dietary inulin prebiotic on growth indicators, survival and carcass composition of Amur fry (*Ctenopharyngodon idella*). *Scientific-Research Journal of Experimental Animal Biology*, 7 (2), 23-32.
45. Taghiyan, H., Sudagar, M., Yousefi, S., Paknejad, H., & Hajibeglou, A., (2023). Effect of dietary of Magnolia (*Sambucus ebulus* L.) fruit extract on growth performance, serum antioxidant activities and evaluation of immunity-related genes (TNF-α and LYZ) in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquaculture Development*, 17 (1), 1-14.
46. Aghamohammadpour, P., Mabudi, H., & Javanzadeh, N. (2019). The Effects of Salinity Stress on Growth Rate, Hematological Parameters and Survivability in Shirbot Fingerlings (*Arabibarbus grypus*). *Animal physiology and development*, 12 (2), 13-27.
47. Khandan Barani, H., Heidari, M.R., & Miri, M. (2016). Effects of nutritional status on blood chemistry profiles and selection of acceptable indices of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology),* 29 (2), 167-177.
48. Hamedi, S., Rahimi, R., Nafisi Bahabadi, M., Azodi, M., & Ahmadi, S.A. 2019. Study of Some Liver Enzymes Changes (*Lates calcarifer*) at Different Levels of Water Salinity.
49. Ighwela, K. A., Ahmad, A. B., & Abol-Munafi, A. B. (2012). Haematological changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with varying dietary maltose levels. *World J Fish Marine Sci*. 4 (4), 376-381.