

## اثرات پودر پوست انار بر ترکیب لاشه، شاخص‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

امین آوازه<sup>۱\*</sup>، حسین عمادی<sup>۲</sup>، عمار صالحی فارسانی<sup>۳</sup>، سید پژمان حسینی شکرابی<sup>۴</sup>، حسین نگارستان<sup>۲</sup>، میثم باورصاد<sup>۱</sup>

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- شرکت آبی اکسیر کوثر، سازمان اقتصادی کوثر، تهران، ایران.

۴- گروه شیلات، واحد علوم تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۷

### چکیده

هدف از اجرای این پروژه، بررسی اثرات پودر پوست انار بر ترکیب لاشه، شاخص‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بود. جیره‌های آزمایشی با سه تکرار شامل ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد پودر پوست انار و جیره شاهد فاقد پودر پوست انار بود. در قالب طرح کاملاً تصادفی، تعداد ۴۵۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان با میانگین وزنی  $45 \pm 5$  گرم در ۱۵ حوضچه سیمانی به مدت ۶۰ روز پرورش یافتند. اضافه نمودن پودر پوست انار به غذای ماهی‌ها، اثر معنی‌داری بر ترکیب لاشه، پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی آن‌ها داشت ( $P < 0/05$ ). همچنین نتایج نشان دادند که در خاکستر لاشه با افزودن پودر پوست انار، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ )، ولی سایر پارامترها نظیر رطوبت، پروتئین و چربی دارای اختلاف معنی‌دار بودند ( $P < 0/05$ ). همچنین بیشترین تعداد گلبول قرمز در تیمار شاهد مشاهده شد ولی تفاوت معنی‌داری در مقایسه با سایر تیمارها نداشت ( $P > 0/05$ ). از نظر تعداد گلبول سفید، بیشترین تعداد در تیمار ۴ درصد پودر پوست انار و کمترین در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین اضافه نمودن پودر پوست انار تأثیر معنی‌داری بر میزان شاخص‌های بیوشیمیایی (گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، پروتئین و آلبومین) داشت ( $P < 0/05$ ). نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پودر پوست انار به مقدار ۴ درصد در جیره غذایی تأثیر بسزایی در فاکتورهای خونی مرتبط با سیستم ایمنی نظیر گلبول سفید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد داشت.

**کلمات کلیدی:** پودر پوست انار، شاخص‌های خونی، شاخص‌های بیوشیمیایی، قزل‌آلای رنگین‌کمان

## مقدمه

خون‌شناسی یکی از شاخه‌های مهم پزشکی و دامپزشکی است که نقش آن در تشخیص اختلالات و بیماری‌ها دارای اهمیت فراوانی می‌باشد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۷۹). خون بعنوان یک بافت سیال و سهل الوصول، یکی از مهمترین مایعات بیولوژیکی بدن بوده که تحت تاثیر حالات مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک ترکیبات آن دستخوش نوسان و تغییر می‌گردد (جمال‌زاده و همکاران، ۱۳۸۷).

خون، بافتی هم‌بند سیال، شامل پلاسما و عناصر سلولی از قبیل گلبول‌های سفید، قرمز و ترمبوسیت‌هاست (شاهسونی و همکاران، ۱۳۷۹) و حامل موادی از قبیل یون‌ها، هورمون‌ها، ویتامین‌ها و پروتئین‌های پلاسما می‌باشد. اهمیت شناخت فاکتورهای خونی نه تنها در تشخیص گونه مهم است، بلکه از نظر اقتصادی نیز می‌تواند در شناسایی بیماری‌ها و تعیین شرایط بهداشتی و سلامت ماهی مفید باشد (جمیلی، ۱۳۷۸). بافت خون شاخص مهمی در بررسی وضعیت فیزیولوژیک اندام‌های بدن در تشخیص بیماری‌ها و کنترل زیستی موجودات زنده از جمله آبزیان است (سعیدی و همکاران، ۱۳۸۲). عملکردهای متفاوت خون، یکی از بافت‌های واکنشی متمایز شده، آن را یکی از شاخص‌های با ارزش منحصر به فرد ساخته است. محققان بسیاری ثابت کرده‌اند خون و سیستم قلبی-عروقی ماهیان در معرض بیماری و تغییرات آسیب‌شناختی حاصل از تأثیر سموم مختلف قرار می‌گیرد (Krylov, 1974). پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی، شاخص‌های ارزشمندی برای پایش سلامتی ماهی و پاسخ‌های فیزیولوژیک،

وضعیت تغذیه و شرایط محیطی موثر بر سلامت ماهی است (Cnaani و همکاران، ۲۰۰۴؛ Hoseinifar و همکاران، ۲۰۱۱).

از این رو، باید مطالعات بیشتری در ارتباط با پارامترهای خونی، چگونگی آنها در شرایط مختلف فیزیولوژیک و پاتولوژیک صورت گیرد تا به موازات گسترش آنها بتوان پاسخگوی نیازهای علمی در پیشگیری، تشخیص و درمان بیماری بود. Ji و همکاران (۲۰۰۷)، در طی ۸ هفته پرورش، اثر مخلوط گیاهان (*Massa medicata, fermentata, Crataegi fructus, Artemisia capillaries, Cnidium officinale*) را بر میزان رشد، اسید چرب، فاکتورهای خونی و مقاومت به استرس در ماهی فلاندر ژاپنی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که استفاده از این مخلوط گیاهی سبب بهبود فاکتورهای رشد، اسید چرب، مقاومت نسبت به استرس و فاکتورهای خونی (هموگلوبین، هماتوکریت و کلسترول) می‌شود. تاکنون پژوهش‌های زیادی در مورد استفاده از پودر پوست انار در جیره ماهیان پرورشی انجام نگردیده است، این بررسی در نظر دارد که استفاده از پودر پوست انار را به عنوان یک مکمل غذایی بر تغییرات ترکیب لاشه، شاخص‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی خون در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی نماید.

انار با نام علمی *Punica granatum* از خانواده Punicaceae است. انار درخت یا درختچه ای است که در اقلیم‌های نیمه گرمسیری و مدیترانه ای پراکنش دارد و به عنوان یک میوه، ارزش غذایی زیادی دارد. پوست انار حاوی ترکیبات متعددی از جمله پلی فنول‌ها

پوست انار بر شاخص‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می باشد.

### مواد و روش ها

تحقیق حاضر در مرکز تحقیقات خجیر واقع در تهران و با خرید ۴۵۰ قطعه ماهی قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزن  $5 \pm 45$  گرم آغاز شد. ماهیان در پنج تیمار و هر تیمار در سه تکرار در پانزده حوضچه سیمانی با ابعاد  $70 \times 100 \times 250$  سانتی‌متر (۳۰ ماهی در هر حوضچه) به صورت کاملاً تصادفی تقسیم شدند. ماهی‌ها به مدت یک هفته با غذای معمولی قزل‌آلا غذا دهی و سپس با ۵ جیره آزمایشی در یک دوره ۶۰ روزه تغذیه شدند، ماهی‌ها ۳ بار در روز (ساعت‌های ۹، ۱۲ و ۱۷) و ۷ روز هفته به طور دستی غذای شدند. میزان پودر پوست انار مورد نیاز برای هر کیلوگرم غذا در تیمارهای مشخص شده ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد و شاهد بدون پوست انار بود، لذا در هر کیلوگرم مواد اولیه غذا به ترتیب ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ گرم پودر پوست انار با انجام مطالعات قبلی جایگزین آرد سویا گردید باشد (Zhang *et al.*, 2007; Parmar and Kar, 2007). پودر پوست انار مورد نیاز تحقیق، پس از تهیه انار منطقه‌ی شیراز، خشک و آسیاب شد. با استفاده از دستگاه‌های موجود در محل انجام پروژه تیمارهای غذایی مختلف ساخته شدند. در این مرحله به منظور نمونه برداری از خون ماهی‌ها در پایان کار به طور تصادفی ۵ عدد ماهی از هر تیمار انتخاب گردید. ابتدا ماهیان توسط پودر گل میخک (۱۲۵ میلی گرم در لیتر)، بیهوش شدند و از طریق قطع ساقه‌ی دمی خون‌گیری صورت گرفت. نمونه‌های خون در لوله‌های آزمایشی هپارین شده و غیره هپارین شده و با قرار دادن ماهی‌ها در ورقه‌های

است که این ترکیبات دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند و همچنین حاوی تانن و آلکالوئیدهای فراوان است. پوست انار دارای اسیدهای پلی فنولیک فلانوییدها و آنتی‌سیانین می باشد (Zhang *et al.*, 2007; Parmar and Kar, 2007). در میان آنتی‌سیانین‌های موجود در پوست انار، دلفینیدین به عنوان قوی‌ترین بازدارنده‌ی اکسیداسیون شناخته می‌شود و دارای ویژگی آنتی‌آزتیوژنیک مهم است که می‌تواند برای پیشگیری و درمان بیماری‌ها و سرطان مفید باشد. کاروتنوئیدها علاوه بر افزایش رنگ ماهی، می‌توانند موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی و همچنین افزایش رشد شوند (Kop and Durmaz, 2008). امروزه به خوبی مشخص شده که اشکال آزاد اکسیژن و سایر مشتقات آن موجب آسیب به بافت‌ها می‌شود، بنابراین علاقه زیادی برای استفاده از مکمل‌های غذایی آنتی‌اکسیدان به وجود آمده است. کاروتنوئیدها به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند که موجب می‌شوند سلول‌ها و بافت‌ها از آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد حفظ شوند (Kuang *et al.*, 2009).

کاروتنوئیدها رنگدانه‌های زرد، نارنجی و قرمز هستند که در سطح وسیعی وجود دارند. این ترکیبات به عنوان فروشاننده اکسیژن عمل می‌کنند و در نقش آنتی‌اکسیدان با جلوگیری از تشکیل هیدروپراکسید مصرف می‌شوند و خاصیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات بستگی به میزان فشار اکسیژن داشته و اگر فشار اکسیژن کمتر از  $150 \text{ toir}$  باشد، بتاکاروتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته و اگر بیش‌تر از  $150 \text{ toir}$  باشد، بتاکاروتن در نقش پراکسیدان ظاهر می‌گردد (Mahdavi *et al.*, 1995). هدف اصلی این پژوهش بررسی اثر استفاده از پودر

آلومینیومی و سپس در کیسه های پلی اتیلنی علامت گذاری شدند و پس از قرار گرفتن در یخ خشک، به آزمایشگاه دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری منتقل گردیدند.

### تجزیه شیمیایی لاشه ماهیان

در انتهای آزمایش، مواد اصلی موجود در جیره های ساخته شده شامل پروتئین خام، چربی خام، رطوبت و خاکستر از طریق روش استاندارد AOAC (۱۹۹۰) اندازه گیری و تعیین شدند.

### روشهای اندازه گیری پارامترهای هماتولوژیک و بیوشیمیایی

برای شمارش گلبول قرمز و سفید، خون هپارینه با استفاده از پی پت ملانژور در محلول (Natt and Herrick, 1952) رقیق شده و با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری شمارش شدند (Stoskopf, 1993).

#### گلبول سفید

خون هپارینه با استفاده از پی پت ملانژور سفید به نسبت ۱/۵۰ در محلول (Natt and Herrick, 1952) ترقیق شدند و با استفاده از لام نئوبار و میکروسکوپ نوری شمارش شدند (Baker et al., 2005).

#### شاخص های گلبول قرمز

میانگین حجم گلبول قرمز (MCV)، میانگین هموگلوبین (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین (MCHC) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شدند (Lee et al., 1998; Campbell and Ellis, 2007).

MCV = (مقدار هماتوکریت / گلبول قرمز در میلیون) × ۱۰

MCH = (مقدار هموگلوبین / گلبول قرمز در میلیون) × ۱۰

MCHC = (مقدار هموگلوبین / مقدار هماتوکریت) × ۱۰۰

برای اندازه گیری هموگلوبین از روش سیانومت هموگلوبین (Blaxhall and Daisley, 1973) و کیت تشخیصی زیست شیمی استفاده شد و همچنین برای اندازه گیری هماتوکریت از روش میکروهیاتوکریت استفاده شد (Baker et al., 2005).

#### شاخص های سرمی

مقدار پروتئین کل به روش بیورت (Kumar et al., 2005)، گلوکز به روش روش آنزیمی - کالریمتری (GOD-PAP)، تری گلیسرید (Borges et al., 2004) و کلسترول به روش آنزیمی - کالریمتری و آلبومین با روش بروموکرزول (Kumar et al., 2005) اندازه گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 21 صورت گرفت و برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel و برای مقایسه میانگین ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون چند دامنه ای دانکن و با خطای ۵ درصد استفاده گردید.

### نتایج

بیشترین میزان رطوبت در تیمار ۴ درصد و کمترین در تیمار ۱ درصد پودر پوست انار مشاهده شد. نتایج نشان دادند که با افزایش درصد پوست انار در جیره، رطوبت کل بدن افزایش می یابد ( $P > 0.05$ ). میزان پروتئین کل بدن در تیمار شاهد بیشترین بود. کمترین پروتئین کل بدن در تیمار ۱ درصد پودر پوست انار مشاهده شد. بیشترین میزان چربی کل بدن در تیمار ۱ درصد پودر پوست انار مشاهده شد که با تیمار ۲، ۳ و ۴ درصد پوست انار و تیمار شاهد تفاوت معنی داری را نشان داد ( $P < 0.05$ ). کمترین میزان چربی هم در تیمار

شاهد مشاهده گردید. همچنین تفاوت معنی داری با افزایش سطوح پوست انار جیره در ترکیب خاکستر کل بدن ماهیان مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ) (جدول ۱).

جدول ۱: ترکیب شیمیایی لاشه در انتهای آزمایش

فاکتور	شاهد	۱ درصد	۲ درصد	۳ درصد	۴ درصد
رطوبت	72/86±0/62 <sup>c</sup>	72/03±0/61 <sup>d</sup>	73/64±0/69 <sup>b</sup>	73/64±0/70 <sup>b</sup>	74/25±0/62 <sup>a</sup>
پروتئین خام	19/07±0/45 <sup>a</sup>	17/09±0/57 <sup>e</sup>	17/67±0/25 <sup>b</sup>	17/48±0/03 <sup>c</sup>	17/33±0/25 <sup>d</sup>
چربی	6/42±0/21 <sup>e</sup>	8/98±0/07 <sup>a</sup>	6/94±0/26 <sup>c</sup>	7/30±0/12 <sup>b</sup>	6/58±0/12 <sup>d</sup>
خاکستر	1/65±0/04 <sup>cd</sup>	1/90±0/04 <sup>a</sup>	1/75±0/04 <sup>bc</sup>	1/58±0/04 <sup>d</sup>	1/84±0/04 <sup>ab</sup>

حروف غیر همسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد و داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار می باشد

جدول ۲- پارامترهای هماتولوژیک ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی پودر پوست انار و شاهد

فاکتور	شاهد	۱ درصد	۲ درصد	۳ درصد	۴ درصد
گلبول قرمز	1/20±0/16 <sup>a</sup>	1/17±0/7 <sup>a</sup>	1/15±0/5 <sup>a</sup>	1/07±0/03 <sup>a</sup>	1/07±0/2 <sup>a</sup>
هموگلوبین (g/dl)	8/06±0/09 <sup>a</sup>	7/20±0/13 <sup>b</sup>	6/54±0/13 <sup>c</sup>	6/04±0/21 <sup>d</sup>	6/34±0/5 <sup>c</sup>
هماتوکریت (MCV)	47/66±1/15 <sup>a</sup>	42/98±1/07 <sup>b</sup>	38/01±1/26 <sup>c</sup>	32/02±2/12 <sup>d</sup>	29/33±2/12 <sup>d</sup>
(MCH)	40/12±46/5 <sup>a</sup>	359/90±28/4 <sup>ab</sup>	331/75±23/1 <sup>bc</sup>	298/58±15/4 <sup>cd</sup>	274/2±21/4 <sup>d</sup>
(MCHC)	68/01±9/9 <sup>a</sup>	61/5±4/3 <sup>ab</sup>	56/9±1/4 <sup>b</sup>	56/3±1/5 <sup>b</sup>	59/3±1/4 <sup>ab</sup>
گلبول سفید	14/70±0/3 <sup>d</sup>	17/1±0/3 <sup>b</sup>	17/02±0/8 <sup>b</sup>	18/9±1/5 <sup>b</sup>	21/6±1/4 <sup>a</sup>
		19/20±1/8 <sup>c</sup>	20/85±0/5 <sup>c</sup>	27/90±1/5 <sup>b</sup>	31/2±2/1 <sup>a</sup>

حروف غیر همسان در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد و داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار می باشد.

لکوسیت‌ها از تیمار شاهد تا ۴ درصد پوست انار به طور منظم و تدریجی افزایش یافته است ( $P < 0/05$ ).

از نظر تعداد گلبول سفید همان طور که در جدول نشان داده شده است، بیشترین تعداد در تیمار ۴ درصد پودر پوست انار و کمترین در تیمار شاهد مشاهده شد. بیشترین میزان هماتوکریت در تیمار شاهد مشاهده شد که از نظر آماری تفاوت معنی داری را با سایر تیمارها داشت ( $P < 0/05$ ) و کمترین درصد آن مربوط به تیمارهای ۳ و ۴ درصد پوست انار بود ( $P > 0/05$ ). از نظر میزان هموگلوبین بین تیمارهای آزمایشی تفاوت

بیشترین تعداد گلبول قرمز در تیمار شاهد مشاهده شد ولی تفاوت معنی داری در مقایسه با سایر تیمارها نداشت ( $P > 0/05$ ). با افزایش درصد پودر پوست انار در جیره، میزان گلبول قرمز کاهش یافت اگرچه تفاوت معنی داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).

تجزیه و تحلیل داده‌های آماری هماتولوژیک نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار در تعداد گلبول سفید (لکوسیت‌ها) در تیمارهای مختلف بود ( $P < 0/05$ ). همان طور که در جدول ۲ نشان می‌دهد، تعداد کل

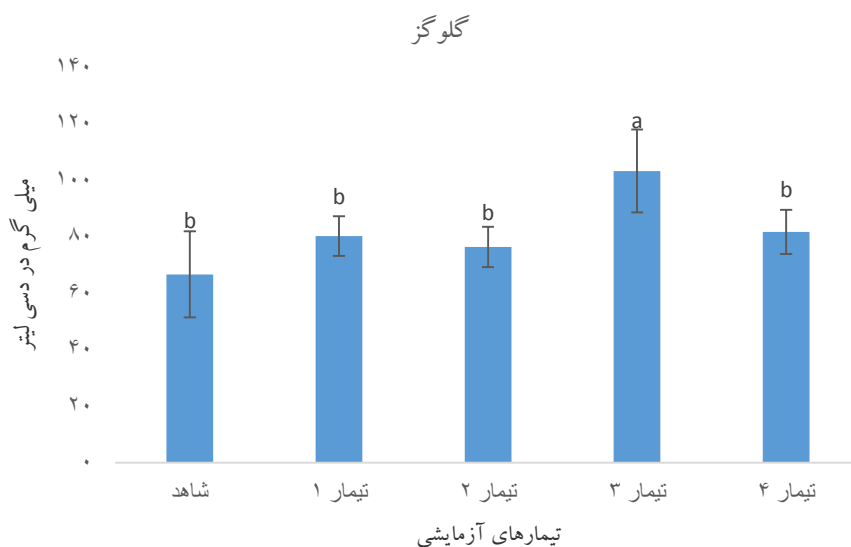
میانگین غلظت هموگلوبین در هر گلبول قرمز (MCHC) تفاوت معنی داری را در تیمارهای مختلف نداشت ( $P > 0/05$ )، اما بالاترین میزان آن در تیمار ۴ درصد پودر پوست انار ملاحظه شد.

### شاخص‌های بیوشیمیایی گلوکز

پودر پوست انار اثر معنی داری را روی میزان گلوکز سرم خون نشان داد ( $P < 0/05$ ). به طوری که بیشترین میزان گلوکز در تیمار ۳ درصد مشاهده شد و همچنین در تیمارهای ۱، ۲ و ۴ درصد پودر پوست انار و تیمار شاهد اختلاف معنی داری نشان داده نشد ( $P > 0/05$ ) (شکل ۱).

معنی داری را نشان داد ( $P < 0/05$ ). بیشترین مقدار آن در تیمار شاهد و کمترین آن در تیمار ۳ درصد پودر پوست انار مشاهده شد همچنین تفاوت معنی داری در تیمار ۲ و ۴ درصد پوست انار مشاهده نشد. محدوده مقدار هموگلوبین در خون ماهیان مورد بررسی در این تحقیق گرم در دسی لیتر بود.

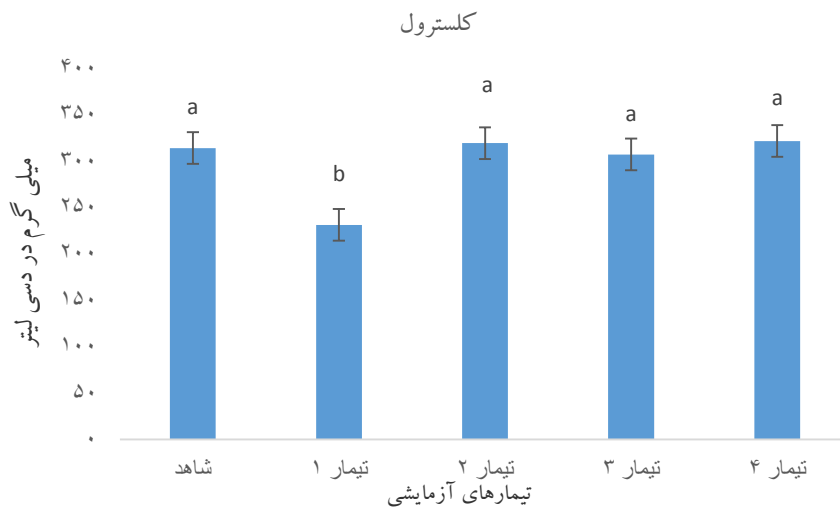
از نظر میانگین حجم هر گلبول قرمز (MCV) بین همه تیمارهای آزمایشی در مقایسه با شاهد تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ( $P > 0/05$ ). تیمار شاهد بیشترین و تیمار ۴ درصد پوست انار کمترین مقادیر را نشان داد ( $P > 0/05$ ). میانگین هموگلوبین هر گلبول قرمز (MCH) بین تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی داری با گروه شاهد مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ).



شکل ۱: میزان گلوکز سرم (میلی گرم در دسی لیتر) در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های آزمایشی پودر پوست انار و شاهد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد می باشد.

درصد پودر پوست انار مشاهده شد. میزان کلسترول پلاسما با کاهش پودر پوست انار کاهش یافت، ولی این تفاوت معنی دار نبود ( $P > 0/05$ ).

کلسترول همان طور که در شکل ۲ نشان داده شده، بیشترین میزان کلسترول در تیمارهای ۲، ۳ و ۴ درصد پودر پوست انار و تیمار شاهد و کمترین آن در تیمار ۱

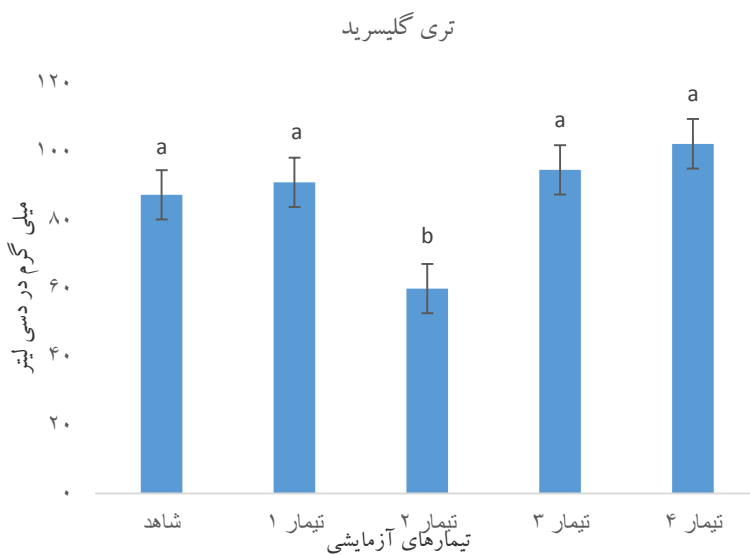


شکل ۲: میزان کلسترول سرم (میلی گرم در دسی لیتر) در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های آزمایشی پودر پوست انار و شاهد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد می باشد

تیمارهای ۱، ۳ و ۴ درصد پودر پوست انار و تیمار شاهد و کمترین آن در تیمار ۲ درصد پودر پوست انار مشاهده شد.

تری گلیسیرید

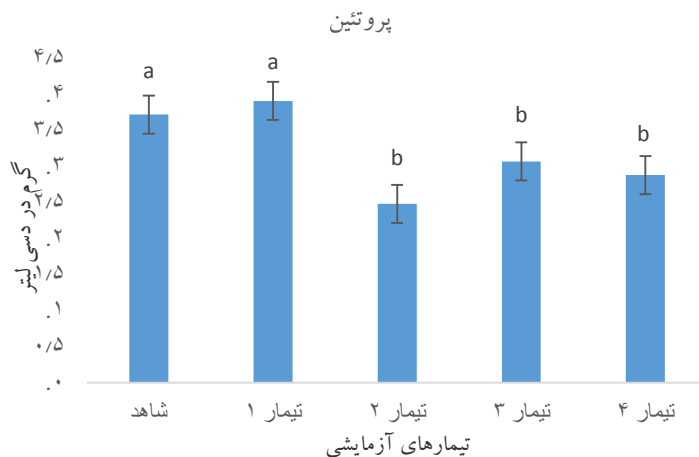
نتایج حاصل از تغییرات تری گلیسیرید سرم خون در شکل ۳ نشان داده شده است که تفاوت معنی داری بین تیمارها از نظر تری گلیسیرید سرم خون وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). بیشترین میزان تری گلیسیرید در



شکل ۳: میزان تری گلیسیرید سرم (میلی گرم در دسی لیتر) در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره های آزمایشی پودر پوست انار و شاهد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد می باشد

بیشترین میزان پروتئین کل در تیمار ۱ درصد پودر پوست انار و تیمار شاهد مشاهده شد اگرچه تفاوت معنی‌داری در سایر تیمارها وجود نداشت ( $P > 0.05$ ) (شکل ۴).

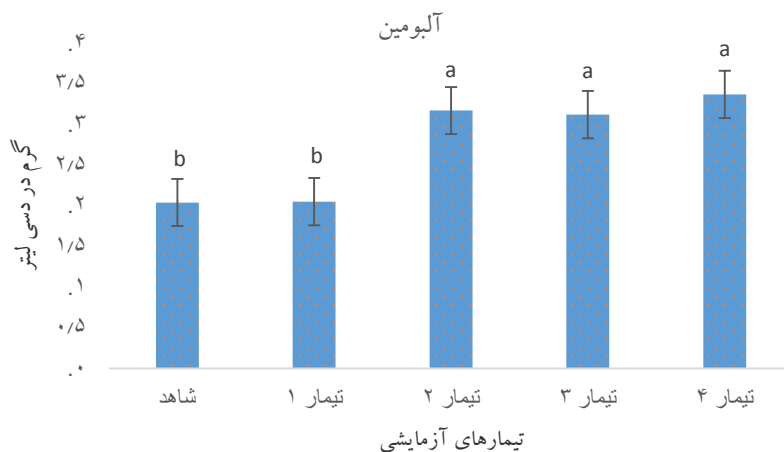
پروتئین کل



شکل ۴: میزان پروتئین سرم (گرم در دسی لیتر) در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی پودر پوست انار و شاهد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد

آلبومین

میزان آلبومین در تیمارهای آزمایشی تفاوت معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند ( $P < 0.05$ ) (شکل ۵).



شکل ۵: میزان آلبومین سرم (گرم در دسی لیتر) در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با جیره‌های آزمایشی پودر پوست انار و شاهد. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد می‌باشد

## بحث

در مطالعه حاضر با افزایش درصد پودر پوست انار در جیره، میزان رطوبت بدن به طور معنی‌داری افزایش یافت که در توافق با یافته‌های Azaza و همکاران (۲۰۰۶)، Adamido و همکاران (۲۰۰۹) در جایگزینی پودر باقلا در به ترتیب در جیره تیلاپیا (*O. niloticus*)، تیلاپیا (*O. niloticus*) و باس دریایی (*D. labrax*) و تقی زاده و همکاران (۱۳۸۹) در جایگزینی پودر سویا در جیره فیل ماهی (*H. huso*) می‌باشد، اگرچه Farhangi و Carter (۲۰۰۱) در جایگزینی لوبین در جیره قزل‌آلا (*O. mykiss*) تفاوت معنی‌داری مشاهده نکردند.

همچنین چربی لاشه ماهیان قزل‌آلای رنگین‌کمان به طور معنی‌داری کاهش یافت که مطابق با یافته‌های Becker and Siddhuraju (۲۰۰۱)، Gaber (۲۰۰۶)، Azaza و همکاران (۲۰۰۹) و Adamido و همکاران (۲۰۰۹) و تقی‌زاده و همکاران (۱۳۸۹) می‌باشد که گزارش کردند با افزایش سطح پروتئین‌های گیاهی (پودر باقلا و سویا) در جیره، محتوای لیپید بدن و انرژی بدن به ترتیب در گونه‌های کپور معمولی (*C. carpio*)، تیلاپیا (*O. niloticus*)، تیلاپیا (*O. niloticus*) و باس دریایی (*D. labrax*) و فیل ماهی (*H. huso*) کاهش می‌یابد.

اما خاکستر لاشه تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند که مطابق با یافته‌های تقی‌زاده و همکاران (۱۳۸۹)، Gaber (۲۰۰۶)، Azaza و همکاران (۲۰۰۹) بود، اگرچه با یافته‌های Farhangi and Carter (۲۰۰۱) تطابق نداشت.

هم چنین Borquez and Alarcón (۲۰۰۲) و Borquez و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که

ترکیب کل بدن با افزایش گنجاندن لوبین در جیره غذایی تغییر نمی‌کند.

با افزایش درصد پودر پوست انار در جیره، میزان پروتئین لاشه کاهش و میزان رطوبت افزایش یافت که می‌تواند نشان‌دهنده وضعیت نامطلوب لاشه ماهیان باشد.

## اثر پودر پوست انار بر شاخص‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی

بسته به سیستم پرورش، جیره غذایی می‌بایست تمام یا قسمتی از احتیاجات تغذیه‌ای موجود را برآورده نماید. برای رسیدن به این هدف، گونه مورد پرورش، مرحله زندگی آن، سلامت، درجه حرارت و شرایط محیطی پرورش نیز در نظر گرفته می‌شود. تمام این فاکتورها احتیاجات تغذیه‌ای ماهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (احتشامی، ۱۳۸۶).

میزان گلبول قرمز در تیمارهای مختلف آزمایشی تغییر معنی‌داری را نشان نداد، اگرچه با افزایش سطح پودر پوست انار میزان آن کاهش یافت. این نتایج مطابق با مطالعات Jahanbakhshi و همکاران (۲۰۱۲) و Hosseini و Khajepour (۲۰۱۳) در جایگزینی پروتئین گیاهی سویا در جیره فیل ماهی (*H. huso*) است، همچنین Yue and Zhou, 2008) در جایگزینی پروتئین‌های گیاهی در جیره تیلاپیای نیل (*O. niloticus*) و رحیمی و همکاران (۱۳۹۹) اثر کرم‌خاکی (*Eisenia fetida*) بر رشد و شاخص‌های خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) روند کاهش در میزان گلبول‌های قرمز خون گزارش کردند.

نتایج حاضر نشان می‌دهند که سطوح مختلف پودر پوست انار تأثیر معنی‌داری بر گلبول سفید خون دارد و

علاوه بر این، میزان هموگلوبین و هماتوکریت نیز تابعی از تغییرات گلبول قرمز بوده و رابطه مستقیم با آن دارند. با افزایش درصد پوست انار در جیره، میزان هموگلوبین و هماتوکریت کاهش یافت. Jahanbakhshi و همکاران (۲۰۱۲) با افزایش درصد جایگزینی پروتئین‌های گیاهی در جیره فیل ماهی پرورشی کاهش معنی‌داری در میزان هموگلوبین و هماتوکریت مشاهده کردند که با نتایج بررسی حاضر مطابقت دارد. Khajepour و Hosseini (۲۰۱۲) دریافتند که افزودن اسید سیتریک (۳ درصد) به جیره شاهد (شامل ۴۱/۵ درصد پودر سویا و ۳۰ درصد پودر ماهی) فیل ماهی پرورشی (*H. huso*)، میزان هموگلوبین و هماتوکریت در مقایسه با تیمار شاهد به طور معنی‌داری بالاتر بود، اما گلوکز سرم و پروتئین کل بدون تاثیر باقی ماند.

در این بررسی هم‌چنین تفاوت معنی‌داری در میزان MCHC، MCV و MCHC مشاهده نشد که با نتایج مطالعه Jahanbakhshi و همکاران (۲۰۱۲) در جایگزینی پروتئین‌های گیاهی در جیره فیل ماهی پرورشی (*H. huso*) مطابقت داشت.

سطوح مختلف اجزای پلاسما به عنوان شاخصی در ارزیابی سلامت و وضعیت فیزیولوژیک ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرند، هم‌چنین، سنجش پارامترهای خونی برای تعیین احتیاجات غذایی، اجزای غذایی جدید و سایر افزودنی‌های می‌توانند مفید واقع شوند.

نوسان فاکتورهای بیوشیمیایی خون از جمله تغییر سطوح گلوکز بعنوان شاخص‌های بیولوژیک که تحت تاثیر عوامل محیطی نظیر صید، دستکاری، حمل و نقل، نگهداری، تراکم بالا، خواص فیزیکی و شیمیایی آب و غیره قرار می‌گیرند، دارای اهمیت بسزایی

روند افزایشی، با افزایش درصد پوست انار نشان داده شد که با تحقیق نجات صنعتی و زمینی (۱۳۹۶)، اثرات عصاره هیدرو الکلی بابونه (*Matricaria recutita*) و رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان کپور معمولی (*C. carpio*) مطابقت دارد. در جایگزینی‌ها، گلبول‌های سفید نقش مهمی را در ایمنی غیر اختصاصی ایفا می‌کنند و شمارش آن‌ها می‌تواند به عنوان شاخصی از وضعیت سلامتی ماهی قابل توجه باشد (Khajepour and Hosseini, 2013). به طور کلی اتفاق نظر محققین بر آن است که فاکتورهای خونی و سرمی ماهیان در گونه‌های مختلف با هم تفاوت دارند و ارتباط و وابستگی زیادی با شرایط محیطی، تغذیه‌ای، سن و غیره دارند. بنابراین باید برای هر گونه ماهی در شرایط اقلیمی هر منطقه مقادیر طبیعی این فاکتورها وجود داشته باشد (شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۶).

دلیل افزایش جمعیت لکوسیت‌ها در سطوح بالای پوست انار را می‌توان احتمالاً به فاکتورهای آنتی اکسیدانی پوست انار و تاثیر آن بر سیستم ایمنی ارتباط داد. از بررسی حاضر می‌توان چنین استنتاج کرد که با افزایش پوست انار در جیره، تعداد لکوسیت‌ها افزوده شده که به عنوان یک واکنش دفاعی از جانب بدن ماهی و تاثیر در سطوح بالای پوست انار می‌باشد.

هم‌چنین مشخص شده که تعداد گلبول قرمز و هموگلوبین خون در ماهی با تغییرات فصلی، چرخه جنسی یا سایر مواد فیزیولوژیک دچار تغییرات معنی‌داری می‌شود (Krajnovic-qzretic, 1991). با توجه به ثابت بودن شرایط محیطی و ماهی مورد آزمایش می‌توان، از تاثیر این عوامل بر تغییرات این شاخص‌ها در تیمارهای مختلف چشم‌پوشی کرد.

می‌باشد (بهمنی، ۱۳۷۸). اغلب شاخص‌های بیوشیمیایی در برابر عوامل استرس‌زا بسیار حساس بوده و بزرگنمایی آنها معمولا وابسته بشدت این عوامل می‌باشد (Webb et al., 2002). جنسیت تأثیری بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون ندارد (هدایتی و همکاران، ۱۳۷۸).

بیشترین مقدار گلوکز، با تفاوت معنی‌داری در تیمار ۳ درصد پودر پوست انار مشاهده شد، اگرچه تفاوت معنی‌داری در تیمارهای ۱، ۲ و ۴ درصد پودر پوست انار و تیمار شاهد مشاهده نشد. گلوکز خون متغیرترین پارامتری است که به میزان بسیار زیادی تحت تأثیر استرس، دستکاری و حمل، استرس محیطی، تغییرات فصلی و وضعیت تغذیه‌ای و بلوغ می‌باشد (حسینی فرد و همکاران، ۱۳۹۲). سطح گلوکز به عنوان علامت مرسوم استرس تحت جایگزینی جیره غذایی اندازه‌گیری می‌شود. گلوکز کربوهیدراتی است که نقش مهمی را در تامین انرژی زیستی حیوانات دارد (Jahanbakhshi et al., 212).

گلوکز ممکن است اهمیت اولیه‌ای به عنوان یک سوسترای اکسیداتیو (بستر اکسیداتیو) برای برخی از سلول‌ها و بافت‌های ماهی داشته باشد. در این بررسی، با افزودن پودر پوست انار در جیره غذایی، میزان کلسترول و تری‌گلیسیرید پلاسما دارای تفاوت معنی‌دار نبود. کاهش در چربی کل بدن سبب کاهش کلسترول و تری‌گلیسیرید پلاسما می‌شود که متابولیسم قابل توجه لیپید احتمالا در ارائه نرخ رشد کمتر موثر می‌باشد. مشاهده شده است که منابع پروتئینی گیاهی می‌توانند میزان کلسترول را تحت تأثیر قرار دهند (Jahanbakhshi et al., 212).

کاهش کلسترول به کاهش سنتز اسیدچرب در کبد به واسطه جلوگیری از فعالیت‌های لیپوژنیک مربوط می‌شود (اکرمی و همکاران، ۱۳۹۰). باید توجه داشت که تری‌گلیسیرید و کلسترول از اجزای عمده سندرم متابولیک‌اند و ممکن است مستقیما با چربی کبد مرتبط باشند (Schindhelm et al., 2006).

میزان غلظت پروتئین کل سرم، به عنوان شاخصی برای وضعیت سلامتی ماهی (Blaxhall and Daisley, 1973) استفاده می‌شود که نقش قابل توجهی را در پاسخ به ایمنی دارد، اگرچه با افزودن پودر پوست انار میزان پروتئین کل سرم به طور معنی‌داری کاهش یافته است. اگرچه Ye و همکاران (۲۰۱۱) نیز روند کاهش معناداری در میزان پروتئین کل در جایگزینی سویا به جای پودر ماهی جیره کفشک ماهی (*Paralichthys olivaceus*) یافتند.

همچنین (Farhangi and Carter, 2001) با افزایش درصد لویپین در جیره ماهی قزل‌آلا (*O. mykiss*)، روند کاهش معنی‌داری در میزان پروتئین کل سرم مشاهده کردند. پروتئین کل در مجموع یک شاخص اصلی در متابولیسم جیره مطرح می‌باشد که کاهش آن احتمالا به سبب کاهش هضم‌پذیری و متابولیسم جیره در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌باشد. بنابراین بررسی آن در مطالعات مهم می‌باشد. تغییرات آن شامل افزایش سنتز یا تجزیه پروتئین و مهار یا فعال شدن برخی از آنزیم‌ها می‌باشد (Canli, 1996).

در این بررسی تفاوت معنی‌داری در میزان آلبومین پلاسما مشاهده شد به این صورت که با افزایش پودر پوست انار میزان آلبومین نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت. آلبومین فراوان‌ترین پروتئین پلاسما می‌باشد و هیپوآلبومین در بسیاری از بیماری‌ها نظیر بیماری‌های

### منابع

۱. احتشامی، ف.، ۱۳۸۶. تغذیه ماهیان پرورشی. انتشارات سازمان شیلات ایران. ۳۹۶ صفحه.
۲. آوازه، ا.، عمادی، ح.، نگارستان، ح. و جانی جلیلی، خ.، ۱۳۹۴. بررسی اثر پوست انار بر تغییر رنگ پوست، گوشت و خون در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله پژوهش‌های علوم و فنون دریایی، ۱۰(۱): ۱-۱۰.
۳. بهمنی، م.، ۱۳۷۸. بررسی اکوفیزیولوژی استرس از سیستم H.P.I.، H.P.G. از طریق اثر بر محور ایمنی و فرآیند تولید مثل در تاس ماهی ایرانی (*Acipenser persicus*). رساله دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات. ۲۷۴ صفحه.
۴. تقی‌زاده، و.، ایمانپور، م.، اسعدی، ر.، چمن‌آرا، و. و شربتی، س.، ۱۳۸۹. تاثیر جایگزینی پروتئین‌های گیاهی به جای پودر ماهی روی شاخص‌های رشد، کیفیت لاشه و پارامترهای بیوشیمیایی خون فیل ماهی جوان. مجله علمی شیلات ایران. شماره ۴. صفحه ۴۲-۳۳.
۵. جمال‌زاده، ح.، کیوان، آ.، عریان، ش. و قمی‌مرزدشتی، م. ر.، ۱۳۸۷. بررسی سطوح برخی از شاخص‌های خونی و بیوشیمیایی ماهیان آزاد دریای خزر (*salmo trutta caspius*). مجله علمی شیلات ایران، ۱۷(۳)، ۴۷-۵۴.
۶. جمیلی، ش.، ماشینیان مرادی، ع.، بهمنی، م. و کیانی ضیابری، ک.، ۱۳۷۸. بررسی و شناخت فاکتورهای خونی پودرک ماهی تالاب انزلی. اولین

کبدی، افزایش کاتابولیسم آلبومین، سوء تغذیه و دفع زیاد آب از کلیه‌ها و دستگاه گوارش دیده می‌شود.

بر اساس نتایج این بررسی، وجود پودر پوست انار در جیره قزل‌آلای رنگین‌کمان اثرات مثبتی بر ترکیب لاشه، شاخص‌های هماتولوژیک و بیوشیمیایی دارد که این امر می‌تواند موجب افزایش سیستم ایمنی ماهی شود. وجود پودر پوست انار در جیره موجب افزایش میزان کمپلمان‌های ایمنی در قزل‌آلای رنگین‌کمان گردید که این افزایش، تقویت سیستم ایمنی را به دنبال داشت. همچنین وجود پودر پوست انار بعنوان یک رنگدانه طبیعی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان می‌تواند موجب افزایش میزان کارتنوئید خون، پوست و گوشت آن گردد (آوازه و همکاران، ۱۳۹۴).

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن پودر پوست انار به مقدار ۴ درصد در جیره غذایی تأثیر بسزایی در فاکتورهای خونی مرتبط با سیستم ایمنی نظیر گلبول سفید ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان خواهد داشت.

### سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور و همکاری دانشکده شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام گردیده است از زحمات دکتر مطلبی رئیس سابق موسسه تحقیقات شیلات ایران و دکتر متین‌فر، دکتر عبدالحی، دکتر روحانی و کارکنان مرکز تحقیقات خجیر که در انجام مراحل عملی تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌گردد.

۱۲. نجات صنعتی، ع.، و زمینی، ع.، ۱۳۹۶. اثرات عصاره هیدرو الکلی بابونه (*Matricaria recutita*) و رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر شاخص‌های خونی و ایمنی بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). توسعه آبی‌زی پروری. ۱۱(۴)، ۱۰۵-۱۲۱.

۱۳. هدایتی، س.ع.ا.، باقری، ط.، یاوری، و. بهمنی، م. و عزیزاده، م. ۱۳۸۷. بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون فیل ماهیان پرورشی در آب لب شور (*Huso huso*)، مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۱(۴)، ۶۵۸-۶۶۶.

14. Adamidou, S., Nengas, I., Henry, M., Grigorakis, K., Rigos, G., Nikolopoulou, D., Kotzamanis, Y., Bell, G.J., Jauncey, K., 2009. Growth, feed utilization, health and organoleptic characteristics of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed extruded diets including low and high levels of three different legumes. *Aquaculture*, 293, 263-271.

15. Alykrins Kyay, I. O., Dolgova, S. N., 1984. Haematological feature of young sturgeon. *Voprosy Ichtologii*, 4, 135-139.

16. AOAC, 1990. Official Methods of Analyses, In: Helrich, K. (Ed.), 15th edition. Association of Official Analytical Chemists Inc, Arlington, VA.

17. Azaza, M.S., K., Wassim, Mensi, F., Abdelmouleh, A., Brini, B., Kraïem, M.M., 2009. Evaluation of faba beans (*Vicia faba L. var. minuta*) as a replacement for soybean meal in practical diets of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 287, 174-179.

18. Baker, D.W., Wood, A.M., Litvak, M.K. and Kieffer, J.D., 2005. Haematology of juvenile *Acipenser oxyrinchus* and *Acipenser brevirostrum* at rest and following forced activity. *Journal of Fish Biology*, 66, 208-221.

19. Blaxhall, P.C., Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use fish with blood. *J. Fish. Biol.* 5, 771-781.

کنفرانس ملی علوم و شیلات و آبزیان ایران و لاهیجان. صفحه‌های ۳۹-۳۷.

۷. حسینی فرد، س.م.، قبادی، ش.، خدابخش، ا. و رزاقی منصور، م.، ۱۳۹۲. تاثیر جیره‌های حاوی سطوح مختلف پودر سویا همراه با مکمل آنزیمی آویزایم بر شاخص‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی سرم خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان. مجله دامپزشکی ایران. ۹(۳)، ۴۳-۵۳.

۸. رحیمی، ر.، پیرعلی، ا.، خدابخش، ا.، یزدی، ا.، فتح‌الهی، م.، میراحمدی، س.ع.، ۱۳۹۹. اثر کرم‌خاکی (*Eisenia fetida*) بر رشد و شاخص‌های خون‌شناسی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). نشریه توسعه آبی‌زی پروری. ۱۴(۱)، ۱۰۵-۱۱۸.

۹. سعیدی، ع.، پورغلام، ر.، نصرآباد، ع. و کامکار، م.، ۱۳۸۲. مقایسه برخی پارامترهای هماتولوژیکال و بیوکمیکال (تعداد اریتروسیتها، مقادیر هماتوکریت و هموگلوبین، اندیس‌های خونی شامل M.C.V و M.C.H.C و گلوکز یا قند خون) در بچه‌ماهی قره‌برون در شرایط دریا. مجله علمی شیلات ایران. ۲۰-۱۹.

۱۰. شاهسونی، د.، وثوقی، غ. و خضرائی‌نیا، پ.، ۱۳۷۹. تعیین برخی شاخص‌های خونی ماهیان خاویاری و انگشت‌قدقره‌برون و اوزون‌برون در استان گیلان. مجله پژوهش و سازندگی. ۵۰. ۱۸-۱۶.

۱۱. شاهسونی، د.، مه‌ری، م. و تقوایی‌مقدم، ا.، ۱۳۸۶. تعیین مقادیر برخی از آنزیم‌های سرم خون فیل ماهی (خاویاری). مجله تحقیقات دامپزشکی. ۶۲(۳)، ۱۲۹-۱۲۷.

29. Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Mojazi Amiri, B., Yelghi, S., Darvish Bastami, K., 2011. The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. *Fish Physiol. Biochem*, 37, 91-96.
30. Jahanbakhshi, A., Imanpoor, M.R., Taghizadeh, V., Shabani, A., 2012. Hematological and serum biochemical indices changes induced by replacing fish meal with plant protein (sesame oil cake and corn gluten) in the Great sturgeon (*Huso huso*). *Comparative Clinical Pathology*, 22, 1087-1092.
31. Ji, S.C., Jeong, G.S., Im, G.S., Lee, S.W., Taki, K., 2007. Dietary medicinal herbs improve growth performance, fatty acid utilization, and stress recovery of Japanese flounder, *Fisheries Science*, 73(1), 70-76.
32. Kanieva, N.A., 2002. "Changes in Hematological Indices of Fish Depending on the Level of Sublethal Petroleum Concentrations," in *Proceedings of the Conference Dedicated to the 105<sup>th</sup> Anniversary of KaspNIRKh. Modern Problems of the Caspian Region (Astrakhan)*, 130-132.
33. Kuang N.Z., He Y., Xu Z.Z., Bao L., He R.R., Kurihara H., 2009. Effect of pomegranate peel extracts on experimental prostatitis rats, *Zhong Yao Cai*, 32(2): 235-9.
34. Kumar, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Choudhury, D., Yengkokpam, S., Mukherjee, S.C., 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. *Fish and Shellfish Immunology*, 19, 331-344.
35. Khajepour, F., Hosseini, S.A., 2012. Citric acid improves growth performance and phosphorus digestibility in beluga (*Huso huso*) fed diets where soybean meal partly replaced fish meal. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 171, 68-73.
36. Kop, A., and Durmaz, Y., 2008. The effect of synthetic and natural pigments on the colour of the cichlids (*Cichlasoma severum*, Heckel 1840). *Aquaculture International*. 16: 117-122.
20. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values *Jundia (Rhamdia quelen)*. *Fish. Physiol. Biochem*, 30, 21-25.
21. Borquez, A., Alarcón, P., 2002. Reemplazo parcial de la harina de pescado por lupino blanco (*Lupinus albus*) en dietas para salmón del Atlántico (*Salmo salar*). *Salmonicultura*, 28, 17-19.
22. Borquez, A.S., Hernandez A.J., Dantagnan, P., 2011. Incorporation of whole lupin, *Lupinus albus*, seed meal in commercial extruded diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: effect on growth performance, nutrient digestibility and muscle fatty acid composition. *Journal of World Aquaculture Society*, 42, 209-221.
23. Campbell, T.W., Ellis, Ch. K., 2007. *Avian and exotic animal hematology and cytology*, Black well scientific publications Ltd, oxford, 11-25 pp.
24. Canli, M., 1996. Effects of mercury, chromium and nickel on glycogen reserves and protein levels in tissues of *Cyprinus carpio*. *Journal of Zoology*, 20, 161-16.
25. Cnaani, A., Tinman, S., Avidar, Y., Ron, M., Hulata, G., 2004. Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochromis aureus*, *O. mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. *Aquaculture Research*, 35, 1434-1440.
26. Farhangi M., Carter, C.G., 2001. Growth, physiological and immunological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to different dietary inclusion levels of dehulled lupin (*Lupinus angustifolius*). *Aquaculture Research*. 32,329-340.
27. Gaber, M.M., 2006. Partial and complete replacement of fish meal by broad bean meal in feeds for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, L., fry. *Aquaculture Research*, 37, 986-993.
28. Hosseini, S.A., Khajepour, F., 2013. Effect of partial replacement of dietary fish meal with soybean meal on some hematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga, *Huso huso*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(2), 348-356.

- mucuna seed meal (*Mucuna pruriens* var. *utilis*) in common carp (*Cyprinus carpio* L.): an assessment by growth performance and feed utilization. *Aquaculture*, 196, 105–123.
45. Webb, M.A.H., Feist, G.W., Foster, E.P., Schreck, C.B., Fitzpatrick, M.S., 2002. Potential classification of sex and stage of gonadal maturity of wild white sturgeon using blood plasma indicators. *Transactions of the American Fishery Society*, 131, 132-142.
  46. Stoskopf, M.K., 1993. Clinical pathology. In: *fish medicine*. 113-130 pp.
  47. Ye, J., Liu, X., Wang, Z., Wang, K., 2011. Effect of partial fish meal replacement by soybean meal on the growth performance and biochemical indices of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture International*, 19, 143-153.
  48. Yue, Y.R., Zhou, Q.C., 2008. Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization, and hematological indices for juvenile hybrid tilapia. *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 284, 185-189.
  49. Zhang Q., Jia D., Yao K., 2007. Antiliperoxidant activity of pomegranate peel extracts on lard, *Natural Products Research*, 21(3): 211-6.
  50. Zmijewski, T., et al. 2006. Slaughter yield, proximate and fatty acid composition and sensory properties of rapfen (*Aspius aspius* L) with tissue of bream (*Abramis brama* L.) and pike (*Esox lucius* L). *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 176-181.
  37. Krajnovic-Ozretic, M., 1991. Hematological and biochemical characteristics of reared sea bass (*Dicentrarchus Labrax* L.). *Acta Biol. Jugosl. Ichthyologia*, 23, 25-34.
  38. Krylov, O.N., 1974. Methodical Instructions on the Hematological Examination of Fish in Aquatic Toxicology (Gos-NIORKh, Leningrad, 1974) [in Russian]. 324 pp.
  39. Lee, R.G., Foerster, J., Jukens, J., Paraskevas, F., Greer, J.P., Rodgers, G.M., 1998. *Wintrobe's- Clinical Hematology*, 10th edn. LippincottWilliams & Wilkins, New York.
  40. Mahdavi, D. L., Deshpande, S.S. and salunkhe, D.K., 1995. *Food Antioxidant*. Edn. New York: Marcelo, Dekker, Inc, U.S.A. 37AP.
  41. Natt, M.P., Herrick, C.A., 1952. A new diluent for counting the erythrocytes and leukocytes of the chicken. *Poult. Sci.* 31, 735–737.
  42. Parmar H.S, and Kar A., 2007. Antidiabetic potential of Citrus sinensis and Punica granatum peel extracts in alloxan treated male mice. *Biofactors*, 31(1): 17-24.
  43. Schindhelm R.K., Diamant, M., Dekker J.M., Tushuizen M.E., Teerlink T., Heine R.J., 2006. Alanine aminotransferase as a marker of non-alcoholic fatty liver disease in relation to type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Diabetes Metab Res Rev*, 22, 437-43.
  44. Siddhuraju, P., Becker, K., 2001. Preliminary nutritional evaluation of