*Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*

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

# The effect of using rice hull (*Oryza sativa*) extract on growth performance, haematological and biochemical parameters of beluga sturgeon (*Huso huso*)

**Elahe Mozafari Ghadikolai[1], Mahdi Hosseinifard[*2], Shayan Ghobadi[3], Hamidreza Aliakbarpour[4], Reza Changizi[5]**

1. Ph.D. Student, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran. E-mail: elahe_222444@yahoo.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Veterinary, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran. E-mail: sm_hosseinifard@yahoo.com
3. Assistant Prof., Dept. of Aquaculture, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran. E-mail: shgh_science@yahoo.com
4. Assistant Prof., Dept. of Aquaculture, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran. E-mail: aliakbarpour@gmail.com
5. Assistant Prof., Dept. of Aquaculture, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran. E-mail: changizi@baboliau.ac.ir

**Article Info**

**Article type:**
Full Length Research Paper

**Article history:**
Received: 04.15.2023
Revised: 05.19.2023
Accepted: 06.30.2023

**Keywords**:
Beluga sturgeon,
Biochemical,
Growth performance,
Haematological,
Rice hull extract

**ABSTRACT**

Beluga sturgeon (*Huso huso*) is one of the important species of the Caspian Sea, and its nutrition management is one of the important goals of aquaculture in order to improve growth and immune system. So, the effects of rice hull extract on the growth performance, hematological and biochemical factors of beluga sturgeon were evaluated. Triplicate groups of beluga juveniles (112 ± 10 g) were placed in 12 tanks (2000) and fed with the 0, 0.5%, 1% and 2% rice hull extract for 56 days. At the end of the experiment biometry was done and blood sampling was conducted. Results showed that although the use of rice hull extract improved the growth performance, there was no significant difference between the different treatments and control group in terms of final weight, weight gain and specific growth rate. The lowest food conversation (FCR) was observed in fish fed on 2% which had significant difference with control. However the amount of hemoglobin, hematocrit and red blood cells showed an increasing trend with increasing the administration levels of the extract, no significant difference was observed between the different treatments and control group. MCV and MCH had the highest amount in the control group and the lowest amount in the 2% treatment. MCHC showed an increasing trend in the extract treatments. The amount of lymphocytes and neutrophils in fish fed with the extract showed an upward trend compared to the control group, and the highest level was measured in 2% treatment. In addition, the activity level of liver enzymes (ALT and AST) slowly increased in fish fed on rice hull extract and there were no significant differences among control, 0.5% and 1% but a significant difference was observed between the 2% treatment and control group. Therefore, it can be concluded that rice hull extract can improve the growth performance and health status of beluga sturgeon through improvement of hematological parameters.

Cite this article: Mozafari Ghadikolai, Elahe, Hosseinifard, Mahdi, Ghobadi, Shayan, Aliakbarpour, Hamidreza, Changizi, Reza. 2024. The effect of using rice hull (*Oryza sativa*) extract on growth performance, haematological and biochemical parameters of beluga sturgeon (*Huso huso*). *Journal of Utilization and Cultivation of Aquatics*, 13 (2), 89-101.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/japu.2023.21269.1771
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان

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

# بررسی اثر عصاره پوسته برنج (*Oryza sativa*) بر برخی از فاکتورهای رشد، خونی و بیوشیمیایی فیل‌ماهیان پرورشی (*Huso huso*)

**الهه مظفری قادیکلائی[۱]، مهدی حسینی‌فرد[*۲]، شایان قبادی[۳]، حمیدرضا علی‌اکبرپور[٤]، رضا چنگیزی[٥]**

۱. دانشجوی دکتری واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران. رایانامه: elahe_222444@yahoo.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران. رایانامه: sm_hosseinifard@yahoo.com
۳. استادیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران. رایانامه: shgh_science@yahoo.com
٤. استادیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران. رایانامه: aliakbarpour@gmail.com
٥. استادیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران. رایانامه: changizi@baboliau.ac.ir

**اطلاعات مقاله**

**نوع مقاله:**
مقاله کامل علمی- پژوهشی

**تاریخ دریافت:** ۱٤۰۲/۰۱/۲٦
**تاریخ ویرایش:** ۱٤۰۲/۰۲/۲۹
**تاریخ پذیرش:** ۱٤۰۲/۰٤/۰۹

**واژه‌های کلیدی:**
بیوشیمیایی،
خون‌شناسی،
عصاره پوسته برنج،
فاکتور رشد،
فیل‌ماهی

**چکیده**

فیل‌ماهی یکی از گونه‌های مهم دریای خزر به‌شمار می‌رود که مدیریت تغذیه آن جهت بهبود رشد و ارتقای سیستم ایمنی از اهداف مهم آبزی‌پروری می‌باشد. به همین منظور در این پژوهش اثر عصاره پوسته برنج بر فاکتورهای رشد، برخی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی فیل‌ماهی بررسی شد تعداد ۱۲۰ قطعه بچه‌فیل‌ماهی با میانگین وزنی ۱۰±۱۱۲ گرم به‌صورت کاملاً تصادفی در تانک‌های ۲۰۰۰ لیتری توزیع شدند. تیمارهای آزمایش شامل ۰ (شاهد)، ۰/۵ درصد (تیمار ۱)، ۱ درصد (تیمار ۲) و ۲ درصد (تیمار ۳) عصاره پوسته برنج بودند. ماهیان به‌مدت ۸ هفته با جیره‌های حاوی عصاره پوسته برنج تغذیه شدند سپس زیست‌سنجی به‌منظور ارزیابی فاکتورهای رشد انجام گرفت و جهت ارزیابی فاکتورهای خونی و بیوشیمیایی خونگیری انجام شد. در انتهای دوره آزمایش نتایج نشان داد که اگرچه استفاده از عصاره پوسته برنج سبب بهبود عملکرد رشد شد اما بین تیمارهای مختلف و گروه شاهد در میزان وزن نهایی، افزایش وزن و نرخ رشد ویژه اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($P>0/05$). اما کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد عصاره پوسته برنج بود و اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشت ($P<0/05$). میزان هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول قرمز با افزایش سطح مصرف عصاره روندی افزایشی را نشان دادند اما بین تیمارهای مختلف و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). میانگین حجم سلولی (MCV) و وزن هموگلوبین داخل سلولی (MCH) بیش‌ترین مقدار را در گروه شاهد و کم‌ترین مقدار را در تیمار ۲ درصد داشتند اما غلظت هموگلوبین داخل سلولی (MCHC) روندی افزایشی را در تیمارهای حاوی عصاره نشان داد. میزان لنفوسیت و

نوتروفیل در ماهیان تغذیه شده با عصاره روندی صعودی را نسبت به گروه شاهد داشت و بین تیمارهای مختلف با یکدیگر و با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵) و بالاترین سطح در تیمار ۲ درصد اندازه‌گیری شد. هم‌چنین میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی (ALT و AST) نیز با افزایش سطح مصرف عصاره در جیره به آرامی افزایش نشان داد به‌طوری‌که تا تیمار ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نگردید و تنها بین تیمار ۲ درصد و گروه شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند (P<۰/۰۵). بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که استفاده از عصاره پوسته برنج در سطح بهینه می‌تواند باعث بهبود عملکرد رشد فیل‌ماهیان پرورشی شود و هم‌چنین می‌تواند به‌واسطه بهبود فاکتورهای خونی وضعیت سلامت ماهیان را تا حدودی تضمین کند.

استناد: مظفری قادیکلائی، الهه، حسینی‌فرد، مهدی، قبادی، شایان، علی‌اکبرپور، حمیدرضا، چنگیزی، رضا (۱۴۰۳). بررسی اثر عصاره پوسته برنج (*Oryza sativa*) بر برخی از فاکتورهای رشد، خونی و بیوشیمیایی فیل‌ماهیان پرورشی (*Huso huso*). *نشریه بهره‌برداری و پرورش آبزیان*، ۱۳ (۲)، ۱۰۱-۸۹.
DOI: 10.22069/japu.2023.21269.1771

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

## مقدمه

صنعت آبزی‌پروری فعالیتی است که جهت تولید مواد غذایی طی دهه‌های اخیر در سراسر جهان در حال رشد و توسعه می‌باشد. یکی از مهم‌ترین دغدغه‌های آبزی‌پروران، بهبود عملکرد رشد و افزایش مقاومت آبزیان می‌باشد. در طول دوره پرورش ماهیان با عوامل محدودکننده‌ای از جمله بیماری‌ها و شرایط نامطلوب روبه‌رو هستند. در چنین شرایطی یکی از راهکارهای مدیریتی برای پرورش‌دهندگان افزایش رشد و بازدهی و پیشگیری از بروز بیماری در مزارع آبزی‌پروری می‌باشد و یکی از پرهزینه‌ترین فاکتورها در امر پرورش تغذیه می‌باشد (٦٠ تا ٧٠ درصد هزینه کل تولید) بنابراین استفاده از جیره‌های غذایی که بتواند سبب بهبود عملکرد رشد و ارتقای سیستم ایمنی شود و بتواند اثرات مطلوبی را بر آبزیان ایجاد نماید یکی از ضروری‌ترین مباحث در امر مدیریت تغذیه و بهداشتی مزارع پرورشی می‌باشد (۱ و ۲). اخیرا استفاده از مواد شیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت آبزی‌پروری به‌دلیل هزینه بالا، ایجاد مقاومت دارویی، مشکلات زیست‌محیطی، پایین آوردن کیفیت گوشت و مشکلات اجرایی تجویز دارو با محدودیت مواجهه شده است و تمایل به استفاده از محرک‌های طبیعی ایمنی به‌عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها افزایش پیدا کرده است (۱ و ۲). پروبیوتیک‌ها، پربیوتیک‌ها، گیاهان و عصاره‌های آن‌ها مکمل‌های غذایی با منشأ طبیعی هستند که امروزه استفاده از آن‌ها در مزارع پرورشی رایج شده است. محرک‌های طبیعی نه تنها موجب افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها می‌شوند بلکه از طریق مکانیسم‌های مختلف موجب تحریک رشد می‌شوند و از آن‌جا که یکی از مهم‌ترین اهداف در آبزی‌پروری افزایش رشد است، تمایل به استفاده از محرک‌های رشد و ایمنی روند رو به رشدی را نشان داده است (۳). محرک‌های ایمنی مانند عصاره‌های گیاهی با تأثیر بر مکانیسم‌های دفاعی میزبان و افزایش قدرت دفاعی آن و هم‌چنین محدود کردن فعالیت پاتوژن‌های فرصت‌طلب می‌توانند منجر به افزایش رشد و کاهش میزان تلفات شوند (٤). بنابراین استفاده از این مکمل‌ها در صنعت آبزی‌پروری به‌منظور مدیریت سلامت آبزیان رایج شده است. عصاره پوسته برنج یکی از این مکمل‌های گیاهی می‌باشد که مطالعات بسیار محدودی در ارتباط با به‌کارگیری آن در جیره غذایی آبزیان صورت گرفته است. پوسته برنج یک ماده غذایی ارزشمند است که حاوی آنتوسیانین، ترکیبات فنولیک و تانین می‌باشد. آنتوسیانین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل می‌کند که می‌تواند باعث به دام انداختن اثرات منفی رادیکال‌های آزاد شود (۵). پوسته برنج دارای ۳-٤ درصد لیزین می‌باشد که در مقایسه با سایر پروتئین‌های گیاهی بالاترین مقدار را دارد (٦). بنابراین پوسته برنج به‌دلیل دارا بودن مواد غذایی با ارزش می‌تواند به‌عنوان یک مکمل غذایی مهم در جیره آبزیان به‌حساب آید (۷). البته مهم‌ترین عامل بازدارنده پوسته برنج فیبر بالای غیرمحلول آن است که در این پژوهش به‌منظور حذف فیبر از عصاره پوسته برنج استفاده گردید.

فیل‌ماهی یکی از شاخص‌ترین اعضای خانواده تاس‌ماهیان است که گوشت و خاویار آن ارزش اقتصادی زیادی برای کشور دارد. در طی دو دهه اخیر، ذخایر طبیعی این ماهیان به دلایل متعددی مانند صید بی‌رویه، از دست رفتن زیستگاه‌های تکثیر طبیعی، آلودگی‌های صنعتی و خانگی، افزایش عفونت‌ها و بیماری‌ها به شدت کاهش یافته و این ماهیان از سال ۱۹۹۰ در فهرست گونه‌های در خطر انقراض قرار گرفته‌اند، بنابراین در دو دهه اخیر، این ماهیان به صنعت آبزی‌پروری کشور معرفی و تکثیر مصنوعی آن‌ها شروع شده است (۸). مطالعات محدودی در

ارتباط با استفاده از عصاره پوست برنج و تأثیر آن بر فاکتورهای رشد، خون‌شناسی و آنزیم‌های کبدی آبزیان صورت گرفت است (۷، ۹، ۱۰ و ۱۱). بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثر عصاره پوسته برنج بر عملکرد رشد، خون‌شناسی و بیوشیمیایی فیل‌ماهی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

**تهیه ماهی و شرایط آزمایشگاهی:** تعداد ۱۲۰ قطعه بچه‌ماهی از مرکز تکثیر و پرورش شهید رجایی تهیه شدند و به مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد واحد بابل منتقل شدند. ابتدا ماهیان جهت انگل‌زدایی و بهبود استرس ناشی از جابه جایی در آب‌نمک (NaCl) با غلظت ۲ درصد به‌مدت ۱۵ دقیقه حمام داده شدند (۲٤). و به‌مدت ٤۸ ساعت جهت کاهش تلفات احتمالی و استرس غذادهی نشدند و در همین محل در مخازن پرورشی ۲۰۰۰ لیتری با تراکم ۱۰ قطعه در هر تانک به‌مدت دو هفته سازگار شدند و با جیره پایه در حد سیری تغذیه شدند. آب سیستم پرورش از یک حلقه چاه عمیق با دبی ۳ لیتر در ثانیه تامین می‌شد.

**روش تهیه عصاره برنج:** برای تهیه عصاره برنج مقدار ۱ کیلوگرم سبوس برنج با ۱۰ لیتر آب مقطر به‌مدت ۵ ساعت جوشانده و پس از خشک شدن و عبور از صافی به‌منظور برداشتن پوسته، محلول حاصل با ٤ برابر حجم اتانول ۹۵ درصد مخلوط شد. دلمه‌های به‌دست آمده جمع‌آوری و سپس در دمای ٤۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک گردیدند. پودر حاصل از الک با مش ۳۰ عبور داده شد تا ذرات یکنواختی به‌دست آید (۱۲ و ۱۳).

**تهیه غذا و تیماربندی:** پس از تهیه عناصر مورد نیاز جیره، هر یک از اقلام توسط ترازوهای دیجیتال با دقت و ۰/۰۱ گرم توزین شده و پس از مخلوط شدن اجزای خوراک مطابق جدول ۱ با استفاده از دستگاه پلیت ساز موجود در دانشگاه آزاد اسلامی واحد نور به پلت‌هایی با قطر ۲ میلی‌متر در آمده و پس از قرار دادن آن در کیسه‌های نایلونی تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شد. ماهیان با میانگین وزنی ۱۰±۱۱۲ گرم در چهار گروه با ۳ تکرار در مخازن ۲۰۰۰ لیتری توزیع شدند. ماهیان به‌مدت ۸ هفته روزانه به میزان ۵ درصد وزن (۱٤) بدن طی ۳ وعده غذادهی شدند. جهت جلوگیری از تأثیر شرایط محیطی به آزمایش فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب در زمان‌بندی مشخص اندازه‌گیری شدند. به‌طوری‌که دمای آب (در سه نوبت) اکسیژن محلول، pH و آمونیاک نیز به‌طور روزانه اندازه‌گیری می‌شد.

**جدول ۱- تجزیه تقریبی جیره پایه (درصد ماده خشک).**

| ترکیبات به درصد گروه | پودر ماهی | آرد گندم | پودر گوشت | آرد سویا | روغن ماهی | مکمل ویتامینه | سلولز | کولین | عصاره پوسته برنج | پروتئین جیره (درصد) | انرژی جیره (کالری) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۳۲ | ۲٤/۸ | ۱٦ | ۲۱ | ٤ | ۰/۰٤۵ | ۲ | ۰/۱۵۵ | ۰ | ۵۲/۱۸ | ۱۹۸/۲۱ |
| تیمار ۱ | ۳۲ | ۲٤/۸ | ۱٦ | ۲۱ | ٤ | ۰/۰٤۵ | ۲ | ۰/۱۵۵ | ۰/۵ | ۵۲/۰۸ | ۱۹۸/۱۱ |
| تیمار ۲ | ۳۲ | ۲٤/۸ | ۱٦ | ۲۱ | ٤ | ۰/۰٤۵ | ۲ | ۰/۱۵۵ | ۱ | ۵۱/۸۹ | ۱۹۷/۹۱ |
| تیمار ۳ | ۳۲ | ۲٤/۸ | ۱٦ | ۲۱ | ٤ | ۰/۰٤۵ | ۲ | ۰/۱۵۵ | ۲ | ۵۱/۹۳ | ۱۹۸/۱٦ |

جدول ۲- نتایج اندازه‌گیری شاخص‌های آب در طول پرورش فیل‌ماهی.

| شاخص‌های آب | مقدار |
|---|---|
| دما (درجه سانتی‌گراد) | ۱۸/۲ ± ۱/۸٤ |
| pH | ۷/۸ ± ۰/۷ |
| اکسیژن (میلی‌گرم در لیتر) | ۸/٦۸ ± ۰/۸ |
| آمونیاک (میلی‌گرم در لیتر) | ۰/۰٦ الی ۰/۰۵ |

**اندازه‌گیری فاکتورهای رشد**: فیل‌ماهیان هر ١٤ روز یک‌بار به‌منظور تصحیح و محاسبه میزان غذا زیست‌سنجی می‌شدند. پس از اتمام دوره آزمایش (۸ هفته) زیست‌سنجی نهایی به‌منظور ارزیابی پارامترهای رشد انجام شد و فاکتورهای رشد با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید (۱۵):

افزایش وزن بدن = وزن نهایی – وزن اولیه

نرخ رشد ویژه = لگاریتم (وزن نهایی – لگاریتم وزن اولیه / طول دوره پرورش) × ۱۰۰

ضریب تبدیل غذایی = مقدار کل غذای خورده شده / مقدار کل وزن اضافه شده

بقا = تعداد ماهیان بعد از دوره پرورش – تعداد ماهیان ابتدای دوره پرورش

**نمونه‌برداری:** پس از پایان دوره آزمایش (٥٦ روز) ۱۰ ماهی از هر مخزن گرفته شد. برای بیهوش کردن ماهیان از پودر گل میخک استفاده گردید. پس از این که ماهیان بیهوش شدند آن‌ها را خارج کرده و برای جلوگیری از ورود موکوس و آب به نمونه خون، ماهیان کاملاً خشک شدند و از ساقه دمی خون‌گیری انجام شد. نمونه‌های خون به دو بخش تقسیم شدند:

بخش اول نمونه‌های خون در میکروتیوپ‌های حاوی ماده ضد انعقاد خون قرار گرفتند تا شمارش گلبول قرمز (RBC)، شمارش گلبول سفید (WBC)، میزان هماتوکریت و هموگلوبین انجام شود و بخش دوم در میکروتیوپ‌های فاقد ماده ضد انعقاد قرار گرفتند. تعداد گلبول‌های سفید با استفاده از لام نئوبار و بعد از رقیق‌سازی خون با محلول دایس (رقت ۱:۵۰) شمارش شد. از چهار مربع کناری لام نئوبار برای شمارش گلبول‌های سفید استفاده شد و عدد به‌دست آمده در ۵۰ ضرب شد. تعداد گلبول‌های سفید در یک میلی‌مترمکعب خون محاسبه گردید. تعداد گلبول‌های قرمز با استفاده از لام نئوبار و بعد از رقیق‌سازی خون با محلول دایس (۱:۱۰۰) شمارش شد. از مربع میانی (۵ خانه وسط) لام نئوبار برای شمارش استفاده شد و عدد به‌دست آمده در ۵۰۰۰ ضرب شد. تعداد گلبول‌های قرمز در در یک میلی‌مترمکعب خون محاسبه شدسرم خون توسط دستگاه سانتریفیوژ ( Eppendorf Centrifuge 5810R, Germany) به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ٦۰۰۰ rpm (٢٤) به‌صورت یک فاز جدا تشکیل شد و توسط سمپلر به مکروتیوپ‌های جدید منتقل شد. نمونه‌ها بلافاصله در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شده و مورد آزمایش قرار گرفت برای اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی (ALT و AST) از کیت‌های آزمایشگاهی پارس آزمون و طبق دستورالعمل شرکت سازنده با دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom, libra S12) استفاده شد.

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One- Way ANOVA) انجام شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف اسمیرنف و همگنی واریانس‌ها به‌وسیله آزمون Leven تست گردید. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری دانکن (Duncan) در سطح ۵ درصد استفاده شد. از نرم‌افزار Spss (نسخه ۱۹) برای آنالیز آماری استفاده شد.

## نتایج

نتایج به‌دست آمده از ارزیابی فاکتورهای رشد در جدول ۳ زیر خلاصه شده است. نتایج نشان داد که بالاترین میزان افزایش وزن و نرخ رشد ویژه در ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد عصاره پوسته برنج بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها و گروه شاهد نداشت (P>۰/۰۵). میزان ضریب تبدیل غذایی (FCR) متناسب با افزایش سطح مصرف عصاره پوسته برنج در جیره، کاهش پیدا کرد. بالاترین میزان در گروه شاهد و کم‌ترین مقدار در تیمار ۲ درصد بود که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت (P<۰/۰۵) هر چند بین سطح ۱ درصد و ۲ درصد جیره اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. میزان بازماندگی در همه گروه‌ها ۱۰۰ درصد بود.

**جدول ۳- میانگین و انحراف معیار فاکتورهای رشد در فیل‌ماهی پرورشی تحت‌تأثیر دزهای مختلف عصاره پوسته برنج.**

| عملکرد رشد | شاهد (۰) | تیمار ۱ (۵ گرم ) | تیمار ۲ (۱۰ گرم) | تیمار ۳ (۲۰ گرم) |
|---|---|---|---|---|
| وزن اولیه (گرم) | ۱۱٤/۰۰±۱۰/۵٤$^{a}$ | ۱۱۱/۳۳±۱٤/۵۷$^{a}$ | ۱۱٤/۰۰±۱۲/٤۹$^{a}$ | ۱۱۱/۳۳±۷/۲۱$^{a}$ |
| وزن نهایی (گرم) | ۲٤۹/٦۷±۱۳/۵۸$^{a}$ | ۲٤۵/۰۰±۱۷/۰٦$^{a}$ | ۲۵۰/۰۰±۱۵/۱۰$^{a}$ | ۲۵۱/۰۰±۷/۰٤$^{a}$ |
| افزایش وزن (گرم) | ۱۳۵/٦۷±۳/۰۵$^{a}$ | ۱۳۳/٦۷±۲/۵۱$^{a}$ | ۱۳٦/۰۰±۳/٤٦$^{a}$ | ۱٤۰/۰۰±٤/۳۵$^{a}$ |
| نرخ رشد ویژه (درصد در روز) | ۱/٤۰±۰/۰٦$^{a}$ | ۱/٤۱±۰/۱۱$^{a}$ | ۱/٤۰±۰/۰۹$^{a}$ | ۱/٤۵±۰/۱۲$^{a}$ |
| ضریب تبدیل غذایی | ۱/٦۹±۰/۰٦$^{a}$ | ۱/٦۷±۰/۱۲$^{a}$ | ۱/۵۲±۰/۰٦$^{b}$ | ۱/٤٦±۰/۰۵$^{b}$ |
| بازماندگی (درصد) | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین تیمارها می‌باشد

نتایج حاصل از آنالیز داده‌های خون‌شناسی فیل‌ماهی تحت‌تأثیر تغذیه با سطوح مختلف عصاره پوسته برنج در جدول ۳ خلاصه شده‌است. نتایج نشان داد که میزان هموگلوبین، هماتوکریت و گلبول قرمز با افزایش سطح استفاد از عصاره پوسته برنج در جیره ماهیان افزایش یافت هرچند اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف و گروه شاهد در سطح فاکتورهای مذکور مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). در ارتباط با تعداد گلبول‌های سفید اندازه‌گیری‌شده بیش‌ترین مقدار در ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد عصاره پوسته برنج مشاهده شد که اختاف معنی‌داری با سایر تیمارها و گروه شاهد داشت (P<۰/۰۵). هم‌چنین بین تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد با یکدیگر و با گروه شاهد نیز اختلاف آماری معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید مشاهد شده (P<۰/۰۵). اندیس‌های گلبولی یعنی حجم متوسط گلبولی (MCV) و میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) با افزایش سطح مصرف عصاره پوسته برنج روندی کاهشی را نشان دادند هرچند بین تیمارهای مختلف با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). درصد مونوسیت

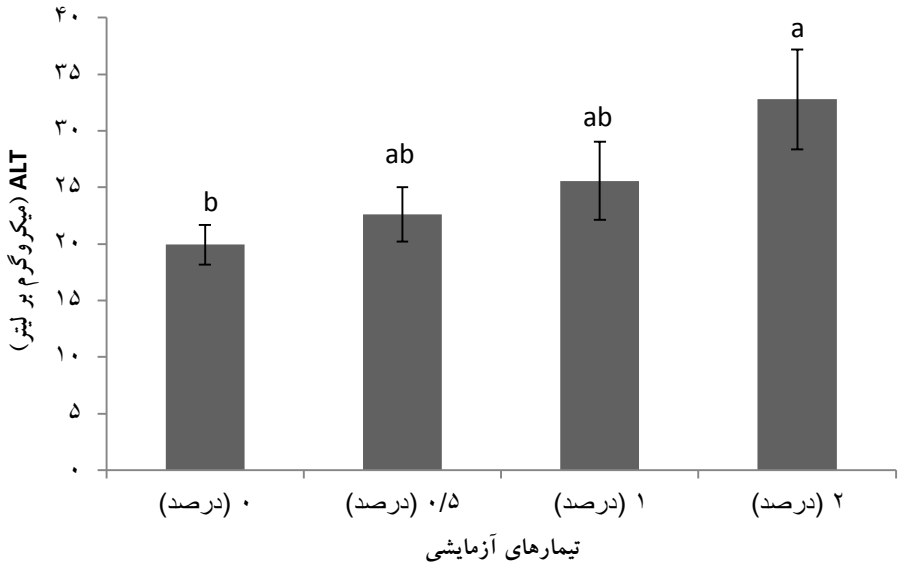
و ائوزینوفیل خون روندی مشابه با یکدیگر را نشان دادند به‌طوری‌که کم‌ترین مقدار در تیمار ۲ درصد و بیش‌ترین درصد در گروه شاهد مشاهده شد. درصد مونوسیت و ائوزینوفیل بین تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P>0/05$) اما شاهد با تیمار ۲ درصد اختلاف معنی‌داری داشت ($P<0/05$).

**جدول ٤- میانگین و انحراف معیار فاکتورهای خونی در فیل‌ماهی پرورشی تحت‌تأثیر دزهای مختلف عصاره پوسته برنج.**

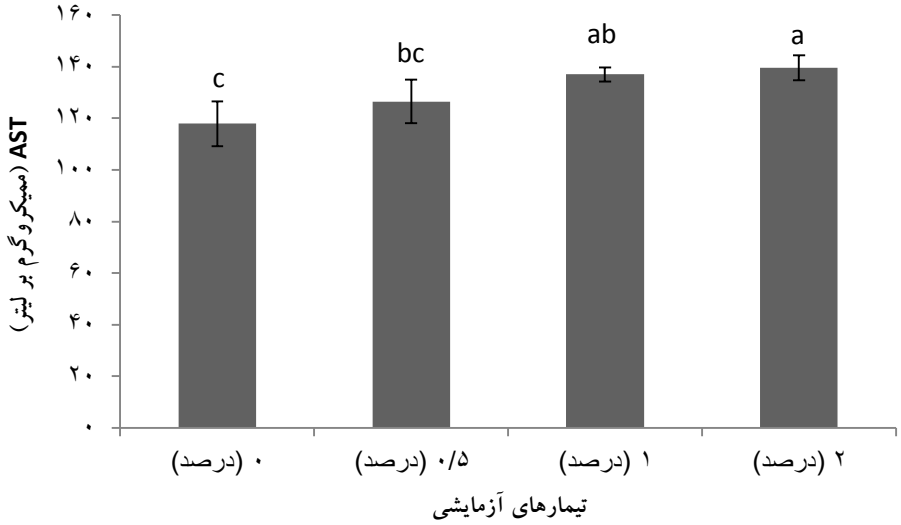
| فاکتورهای خون‌شناسی | شاهد (۰) | تیمار ۱ (۵ گرم) | تیمار ۲ (۱۰ گرم) | تیمار ۳ (۲۰ گرم) |
|---|---|---|---|---|
| هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر) | ٤/٣٢±٠/٢٩$^{a}$ | ٤/٣٧±٠/١٦$^{a}$ | ٤/٤٢±٠/١٣$^{a}$ | ٤/٥٢±٠/١٠$^{a}$ |
| هماتوکریت (درصد) | ٢٢/٨٠±٠/١٩$^{a}$ | ٢٢/٩٤±٠/١٢$^{a}$ | ٢٢/٩٧±٠/١٥$^{a}$ | ٢٣/٠٣±٠/٥١$^{a}$ |
| گلبول قرمز (میکرولیتر*$10^{6}$) | ٠/٩٠±٠/١٢$^{a}$ | ٠/٩٣±٠/١٠$^{a}$ | ٠/٩٥±٠/٧٥$^{a}$ | ١/٠٤٢±٠/٠٨$^{a}$ |
| گلبول سفید (میکرولیتر*$10^{3}$) | ٨٨/٠١±٠/٦٧$^{d}$ | ٩٢/١٥±٠/٢٤$^{c}$ | ٩٧/٠٠±٠/١٩$^{b}$ | ١٠٥/٢٤±٠/١٣$^{a}$ |
| MCV (فمتولیتر) | ٢٥٥/٨٣±٣٢/٤٩$^{a}$ | ٢٤٧/٦٢±٢١/٠١$^{a}$ | ٢٤١/١٠±١٨/٣٢$^{a}$ | ٢٢١/٦١±١٦/٣٦$^{a}$ |
| MCH (پیکوگرم) | ٤٨/٢٦±٤/٥٥$^{a}$ | ٤٧/١٢±٤/٣٤$^{a}$ | ٤٦/٤٠±٢/٥١$^{a}$ | ٤٣/٥٣±٣/٨٧$^{a}$ |
| MCHC (درصد) | ١٨/٩٣±١/١٥$^{a}$ | ١٩/٠٥±٠/٦٨$^{a}$ | ١٩/٢٦±٠/٤٣$^{a}$ | ١٩/٦٤±٠/٨٧$^{a}$ |
| مونوسیت (درصد) | ٩/٠٠±٣/٠٠$^{a}$ | ٦/٣٣±١/٥٢$^{ab}$ | ٥/٠٠±١/٧٣$^{ab}$ | ٣/٣٣±٢/٥١$^{b}$ |
| لنفوسیت (درصد) | ٥٨/٣٣±١/٥١٢$^{d}$ | ٦٠/٣٣±٠/٥٧$^{c}$ | ٦٢/٦٦±٠/٥٧$^{b}$ | ٦٥/٠٠±١/٠٠$^{a}$ |
| نوتروفیل (درصد) | ١٩/٠٠±١/٠٠$^{d}$ | ٢١/٦٦±٠/٥٧$^{c}$ | ٢٣/٣٣±٠/٥٧$^{b}$ | ٢٥/٣٢±٠/٥٧$^{a}$ |
| ائوزینوفیل (درصد) | ١٣/٦٦±٤/٠٤$^{a}$ | ١١/٦٦±٢/٣٠$^{ab}$ | ٩/٠٠±١/٧٣$^{ab}$ | ٦/٣٣±٣/٠٥$^{b}$ |

حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار($P<0/05$) بین تیمارها می‌باشد

نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی در شکل‌های ۱ و ۲ گزارش شده است. میزان آنزیم‌های کبدی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) در ماهیان تغذیه شده با عصاره پوسته برنج نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. به‌طوری‌که بیش‌ترین سطح در تیمار ۲ درصد مشاهده شد و کم‌ترین مقدار در گروه شاهد بود. هرچند سطح آنزیم ALT بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P>0/05$) اما تیمار ۲ درصد با شاهد اختلافش معنی‌دار بود ($P<0/05$). بین تیمار ۱ درصد و ۲ درصد در میزان آنزیم AST اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید و در ضمن این دو تیمار با شاهد اختلاف معنی‌دار آماری را نشان ندادند.




**شکل ۱- میانگین و انحراف معیار آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در فیل‌ماهی پرورشی تحت‌تأثیر تغذیه با سطوح مختلف عصاره پوسته برنج.**




**شکل ۲- میانگین و انحراف معیار آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) در فیل‌ماهی پرورشی تحت‌تأثیر تغذیه با سطوح مختلف عصاره پوسته برنج.**

## بحث و نتیجه‌گیری

طی سال‌های گذشته مطالعات بسیاری در ارتباط با استفاده از عصاره‌های گیاهی و تأثیر مثبت آن‌ها بر رشد، کارایی سیستم ایمنی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در آبزیان انجام شده است (۱۶ و ۱۷). پژوهش‌گران گزارش کرده‌اند که محصولات گیاهی تحریک‌کننده اشتها و افزایش وزن هستند که به‌علت فعالیت مولکول‌هایی مانند آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، ساپونین‌ها

و فلاونوئیدها به‌عنوان محرک ایمنی عمل می‌کنند و دارای اثرات ضد باکتریایی و ضد عامل بیماری‌زا در ماهی و نرم‌تنان هستند (۱۸). پوسته برنج به‌عنوان یک منبع طبیعی غنی از مواد مغذی و ترکیبات بیولوژیک مانند توکوفرول، توکوترینول، اریزانول، ویتامین‌های گروه B، آنتوسیانین، تانین و ترکیبات فنولیک می‌باشد (۷). نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که اگرچه با افزایش سطح مصرف عصاره پوسته برنج در جیره فاکتورهای رشد فیل‌ماهی بهبود یافت اما این اختلافات معنی‌دار نبود. هم‌چنین نتایج (جدول ۳) نشان داد که میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمارها کم‌تر از گروه شاهد بود. یکی از عوامل اقتصادی بودن پرورش آبزیان مقدار ضریب تبدیل غذایی (FCR) است. چرا که علاوه بر کاهش هزینه‌های غذا و غذادهی به سبب مقدار کم‌تر غذادهی، از آلودگی ثانویه آب محیط پرورش و به تبع آن کاهش پارامترهای کیفی آب جلوگیری خواهد کرد (۱۹). پوسته برنج محصولی سرشار از کربوهیدارت و فیبر می‌باشد. افزایش فیبر، افزایش کربوهیدرات و افزایش مقادیر نامناسب اسیدآمینه و ترکیبات جدید در جیره‌های غذایی مبتنی بر پروتئین‌های حیوانی و گیاهی نه تنها می‌تواند تأثیر منفی بر دستگاه گوارش و کبد ماهیان بگذارد و منجر به کاهش رشد شود، بلکه موجب تضعیف سیستم ایمنی و حتی مرگ و میر در ماهیان پرورشی شود که با عصاره‌گیری اثرات منفی پوسته برنج به‌خصوص فیبر نامحلول آن حذف گردید (۲۰). بنابراین با توجه به بهبود فاکتورهای رشد تحت‌تأثیر استفاده از عصاره پوسته برنج در جیره فیل‌ماهی می‌توان چنین استنباط کرد که سطوح استفاده شده در حد اپتیمم بوده که تأثیرات مطلوبی بر رشد این گونه داشته است. مطالعات انجام‌شده در خصوص تعیین احتیاجات غذایی فیل‌ماهی نشان داد فیل‌ماهی در مقایسه با تاس‌ماهی سفید و سیبری گونه‌ای است که می‌توان آن را با درصدهای بالای کربوهیدرات تغذیه کرد بدون این‌که در روند رشد آن اختلالی ایجاد شود (۲۱). بنابراین بهبود عملکرد رشد تحت‌تأثیر استفاده از عصاره پوسته برنج در جیره فیل‌ماهی را می‌توان به قابلیت فیل‌ماهی در هضم کربوهیدرات‌های موجود در پوسته برنج نسبت داد. هم‌راستا با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش گزارش شده است که استفاده از ۷/۵ و ۱۰ درصد پوسته برنج در جیره ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) به‌طور معنی‌داری باعث افزایش وزن و نرخ رشد ویژه شد و با افزایش سطح مصرف پوسته برنج در جیره ضریب تبدیل غذایی نیز افزایش یافت اما اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت (۱۱). هم‌چنین با به‌کارگیری سطوح مختلف پوسته برنج (۲/۵، ۵، ۷ و ۷/۵ درصد) در جیره گربه‌ماهی (*Clarias gariepinus*) گزارش شده که بالاترین میزان افزایش وزن، نرخ رشد ویژه و کارایی پروتئین در ماهیان تغذیه شده با ۲/۵ درصد پوسته برنج بود (۱۰). علاوه بر این گزارش‌ها، پژوهش‌های گسترده‌ای در زمینه جایگزینی پروتئین‌های گیاهی با نسبت‌های مختلف با پودر ماهی صورت گرفته است که گزارش شده اگر به‌میزان بهینه این جایگزینی انجام شود نه تنها تأثیر سویی بر فاکتورهای رشد گونه‌های مختلف آبزیان ندارد بلکه می‌تواند باعث بهبود عملکرد رشد شود (۹ و ۲۲). محصولات گیاهی محرک اشتها بوده و بر تحریک ترشح آنزیم‌های لوزالمعده تأثیرگذار هستند. ترکیبات موجود در گیاهان مانند اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌ها و جذابیت بوی ناشی از آن‌ها سبب افزایش اشتها و کارایی هضم می‌شود و نهایتاً رشد، متأثر از فعالیت آنزیم‌های گوارشی افزایش می‌یابد (۷). طبق نتایج به‌دست آمده از این گزارش عصاره پوسته برنج سبب بهبود فاکتورهای خونی از جمله هموگلوبین، هماتوکریت، گلبول قرمز و گلبول سفید شد به‌شکلی

که تعداد گلبول سفید به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای در تیمارها بالاتر از گروه شاهد بودند. تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت و میزان هموگلوبین شاخص‌های مناسبی برای بیان ظرفیت انتقال اکسیژن و سلامت ماهیان هستند. استرس باعث کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، سطوح هماتوکریت و هموگلوبین می‌شود (۲۳) بنابراین روند افزایشی این فاکتورها تحت‌تأثیر استفاده از عصاره پوسته برنج در جیره می‌تواند بیانگر بهبود فاکتورهای خونی و وضعیت سلامت این گونه تحت شرایط آزمایش باشد. گلبول‌های سفید خون جزء عوامل محافظت‌کننده در برابر عوامل بیماری‌زا بوده و نقش مهمی در عمل بیگانه‌خواری و پاسخ ایمنی نسبت به عوامل انگلی، ویروسی، باکتریایی و کمک به ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده دارند. اندازه‌گیری گلبول‌های سفید، درصد و نوع آن‌ها در تعیین وضعیت عمومی ماهی بسیار پرکاربرد است (۳). افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون تحت‌تأثیر استفاده از مکمل‌های تحریک‌کننده ایمنی می‌تواند نشانه‌ای از وضعیت سلامت ماهیان باشد (۲٤). هم‌چنین کاهش تعداد ائوزینوفیل تحت‌تأثیر استفاده از عصاره پوسته برنج می‌تواند بیانگر وضعیت سلامت فیل‌ماهیان تغذیه شده با عصاره پوسته برنج باشد زیرا ائوزینوفیل‌ها در شرایط التهاب سلولی و افزایش فعالیت‌های فاگوسیتوزی افزایش پیدا می‌کنند. هم‌راستا با نتایج به‌دست آمده از این مطالعه گزارش شده که استفاده از ۷/۵ و ۱۰ درصد پوسته برنج در جیره ماهی تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) منجر به بهبود فاکتورهای خونی به‌خصوص هموگلوبین و نوتروفیل شد (۱۱). کبد حساس‌ترین عضو بدن ماهی نسبت به آلودگی و نقص در سیستم ایمنی است. مبحث بررسی تأثیر جیره‌های غذایی بر فعالیت آنزیم‌های کبدی موضوعی است که در سالیان اخیر به آن توجه شده است. طبق نتایج حاصل از اندازه‌گیری آنزیم‌های ALT و AST فیل‌ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره پوسته برنج، با افزایش سطح مصرف عصاره در جیره سطح این آنزیم‌ها نیز افزایش پیدا کردند (شکل‌های ۱ و ۲) و بالاترین میزان در ماهیان تغذیه شده با ۲ درصد عصاره پوسته برنج بود. یکی از دلایل افزایش فعالیت ALT و AST ماهیان تغذیه شده با جیره‌های مبتنی بر عصاره پوسته برنج افزایش روند کاتابولیسم پروتئین و اسیدآمینه‌ها و تبدیل گروه‌های آمینه به اسید آلفاکتو (کاتالیز برگشت‌پذیر) برای استفاده بعدی در مسیر تولید گلیکوژن است (۲۵). تغذیه ماهی تیلاپیا با مخلوطی از ترکیبات گیاهی منجر به افزایش سطح آنزیم‌های ALT و AST در خون گردید که این امر می‌تواند ناشی از وجود ترکیبات ضد تغذیه‌ای در گیاهان باشد (۲٦). همان‌طور که قبلاً اشاره شد یکی از مهم‌ترین ترکیبات موجود در پوسته برنج ترکیبات فنولیک می‌باشند و گزارش‌های متعددی مبنی بر تأثیر مثبت جیره‌های غذایی غنی شده با ترکیبات فنولیک و پلی‌فنولیک بر فاکتورهای رشد، فعالیت‌های ضدالتهابی، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آبزیان گزارش شده است (۲۷، ۲۸ و ۲۹). بنابراین شاید بتوان بهبود عملکرد رشد و فاکتورهای خونی فیل‌ماهیان تغذیه شده با عصاره پوسته برنج را به ترکیبات فنولیک موجود در این ماده نسبت داد (۲۹، ۳۰).

از این مطالعه می‌توان چنین استنباط نمود که استفاده از ۱ درصد عصاره پوسته برنج در جیره فیل‌ماهی می‌تواند اثرات مطلوبی بر بهبود عملکرد رشد و شاخص‌های خونی و سرمی داشته باشد.

## منابع


1. Ardo, L., Yin, G., Xu, P., Varadi, L., Szigeti, G., & Jeney, Z. (2008). Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against (*Aeromonas hydrophila). Aquaculture*. 275, 26-33.
2. Liu, B. (2013). Effects of mannan oligosaccharide on the physiological responses, HSP70 gene expression and disease resistance of Allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) under *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish and shellfish immunology*. 34, 1395-1403.
3. Sakai, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*. 172, 63-92.
4. Wijendra, G. D. N. P., & Pathiratne, A. (2007). Evaluation of immune responses in an Indian carp, (*Labeo rohita*) fed with levamisole incorporated diet. *Journal of Science of the University of Kelaniya*. 3, 17-28.
5. Butsat, S., & Siriamornpun, S. (2010). Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. *Food Chemistry*. 119, 606-613.
6. Juliano, B. O. (1985). Rice properties and processing. *Food Reviews International*. 1, 423-445.
7. Yuangsoi, B., Rinthong, P., & Charoenwattanasak, S. (2016). The effect of black glutinous rice bran (*Oryza sativa* L.) in diets of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 15, 1441-1454.
8. Ahmadifar, E., Akrami, R., Ghelichi, A., & Mohammadi Zarejabad, A. (2011). Effects of different dietary prebiotic inuline levels on blood serum enzyme, hematologic and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juvenile. *Comparative Clinical Pathology*. 20, 447-451.
9. Sánchez-Lozano, N. B., Martínez-Llorens, S., Tomás-Vidal, A., & Cerdá, M. J. (2009). Effect of high-level fish meal replacement by pea and rice concentrate protein on growth, nutrient utilization and fillet quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*, L.). *Aquaculture*, 298, 83-89.
10. Adesola, T. T., Aderolu, A. Z., & Lawal, M. O. (2016). Effects of graded activated charcoal in rice husk diets for mud catfish, *Clarias gariepinus* juveniles (Teleostei: Clariidae).
11. Aderolu, A. Z., Jimoh, W. A., Lawal, M. O., & Aarode, O. O. (2015). Effects of Pleurotus tuber-regium degraded rice husk on growth, nutrient utilization, hematology and biochemical parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Production Agriculture and Technology*. 11, 32-43.
12. Yang, C. Y., Sheih, I. C., & Fang, T. J. (2012). Fermentation of rice hull by *Aspergillus japonicas* under ultrasonic pretreatment. *Ultrusonics Sornochemistry*. 19, 687-691.
13. Zhang, H., Zhao, X., Ding, X., Lei, H., Chen, X., An, D., et al. 2010. A study on the consecutive preparation of D-xylose and pure superfine silica from rice husk. *Bioresource Technology*. 101: 1263-1267.
14. Jalali, M. A., Ahmadifar, E., Sudagar, M., & Takami, G. A. (2009). Growth efficiency, body composition, survival and haematological changes in great sturgeon (*Huso huso*) juveniles fed diets supplemented with different levels of Ergosan. *Aquacult. Res*. 40, 804-809.
15. Bekcan, S., Dogankaya, L., & Cakirogullari, G. C. (2006). Growth and body composition of European catfish *Silurus glanis.* fed diets containing different percentages of protein. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh.* 58, 137-142.
16. Gessner, D. K., Ringseis, R., & Eder, K. (2017). Potential of plant polyphenols to combat oxidative stress and inflammatory processes in farm animals. *Journal Animal Physiology and Nutrient.* 101, 605-628.
17. Surai, P. F. (2014). Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: from the past to the future. *Journal Animal Physiology and Nutrient.* 98, 19-31.

18. Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., & Banaigs, B. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture*. 433, 50-61.
19. Dimaggio, M., Kenter, L. W., Breton, T. S., & Berlinsky, D. L. (2016). Effects of dietary genistein administration on growth, survival and sex determination in southern flounder, Paralichthys lethostigma. *Aquaculture Research*. 47, 82-90.
20. Raskovic, C. B., Stonkovic, B., Markovic, Z. Z., & Poleksic, V. D. (2011). Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. *Journal Agricultural Science*. 56, 87-100.
21. Mohseni, M., Sayed Hassani, M. H., Pourali, H. R., Pourkazemim, M., & Bai, S. C. (2011). The optimum dietary carbohydrate/lipid ratio can spare protein in growing beluga (*Huso huso)*. *Applied Ichthyology*. 27, 775-780.
22. Palmegiano, G., Dapra, F., Forneris, G., Gai, F., Gasco, L., Guo, K., Peiretti, P., Sicuro, B., & Zoccarato, I. (2006). Rice protein concentrate meal as a potential ingredient in practical diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 258, 357-367.
23. Hastuti, S., & Subandiyono, S. (2018). Haematological parameters of the North African catfish *Clarias gariepinus* farmed using biofloc technology. *AACL Bioflux*. 11, 1415-1424.
24. Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D. L., Amiri, B. M., Yelghi, S., & Bastami, K. D. (2011). The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. *Fish physiology and biochemistry*. 37, 91-96.
25. Abou El-Naga, E. H., El-Moselhy, K. H. M., & Hamed, M. A. (2005). Toxicity of Cadmium and Copper and Their Effect on Some Biochemical Parameters of Marine Fish *Mugil Seheli*. *Egyptian Journal of Aquatic Research*. 31, 60-71.
26. Rezaie, M. B., & Jaymand, K. (2002). Study of chemical constituent oil of Lippia citriodora. *Pajouhesh va Sazandegi*. 53, 13-15.
27. Brenes, A., Viveros, A., Chamorro, S., & Arij, I. (2016). Use of polyphenol-rich grape by-products in monogastric nutrition: A review. *Anim. Feed Sci. Technol*. 211, 1-17.
28. Lipiński, K., Antoszkiewicz, Z., Mazur-Kuśnirek, M., Korniewicz, D., & Kotlarczyk, S. (2019). The effect of polyphenols on the performance and antioxidant status of sows and piglets. *Italian Journal Animal Science*. 18, 174-181.
29. Varricchio, E., Coccia, E., Orso, G., Lombardi, V., Imperatore, R., Vito, P., & Paolucci, M. (2019). Influence of polyphenols from olive mill wastewater on the gastrointestinal tract, alveolar macrophages and blood leukocytes of pigs. *Italian Journal Animal Science*. 18, 574-586.
30. 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.