

"مقاله پژوهشی"

تأثیر جایگزینی جزئی روغن پیه گاو و روغن کانولا به جای روغن ماهی جیره بر فراسنجه‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سپیده عالمی^۱، سارا جرجانی^{۱*}، افشین قلیچی^{۱*}، رضوان‌اله کاظمی^۱، زهرا غیاثوند^۱

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

۲- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، رشت، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۲/۱۶

چکیده

هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر جایگزینی روغن پیه گاو و روغن کانولا به جای روغن ماهی جیره بر فراسنجه‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بود. برای این منظور ۲۵۰ عدد ماهی با وزن متوسط ۲۰ گرم انتخاب و به صورت تصادفی با ۳ تکرار به صورت: تیمار ۱ یا شاهد (جیره حاوی ۱۰۰٪ روغن ماهی)، تیمار ۲ (جیره حاوی ۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ پیه گاو)، تیمار ۳ (جیره حاوی ۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن کانولا) و تیمار ۴ (جیره حاوی ۵۰٪ روغن ماهی و ۲۵٪ پیه گاو و ۲۵٪ روغن کانولا) در حوضچه فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری تیماربندی شد. ماهیان طبق جداول غذایی در ۲ نوبت به مدت ۹۰ روز غذایی شدند. در پایان دوره از سیاه‌رنگ ساقه دمی ماهیان خون‌گیری انجام و شاخص‌های خونی اندازه‌گیری شد. بیشترین تعداد گلبول قرمز و درصد هماتوکریت متعلق به تیمار شاهد و کمترین تعداد مربوط به تیمار ۳ بود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد، درصد لنفوسیت تیمار شاهد به طور معنی‌دار نسبت به تیمارهای دیگر بیشتر بود ($p \leq 0.05$). اختلاف معنی‌داری در سایر فراسنجه‌های خونی اندازه‌گیری شده مشاهده نشد. با توجه به نتایج حاصله جایگزینی ۲۵٪ روغن پیه گاو و ۲۵٪ روغن کانولا به جای روغن ماهی در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بر فراسنجه‌های خونی تأثیر سوئی ندارد.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، خون‌شناسی، روغن ماهی، پیه گاو، روغن کانولا

مقدمه

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) با دارا بودن ویژگی‌های منحصر به فرد از جمله کیفیت گوشت، اهلی شدن سریع و آسان، سخت‌گیر نبودن در غذاگیری، امکان پرورش متراکم، طول نسبتاً کوتاه دوره پرورش و مقاومت به دامنه گسترده‌ای از شرایط فیزیکی‌وشیمیایی محیط از گونه‌های مهم و تجاری در ایران و جهان جهت تامین پروتئین مورد نیاز جامعه می‌باشد. این ماهی گوشت‌خوار است و در میزان استفاده از کربوهیدرات‌ها محدودیت دارد. لذا تا حد زیادی می‌تواند انرژی مورد نیاز خود را از چربی و پروتئین جیره به‌دست آورد. چربی‌ها انرژی بیشتری را به ازای هر واحد وزن نسبت به دیگر مواد مغذی جیره تولید می‌کنند. چربی و اسیدهای چرب سازنده آنها به همراه پروتئین‌ها اصلی‌ترین جزء ترکیبات آلی بدن ماهی و منبع اصلی انرژی سوخت و ساز برای رشد، تولیدمثل، حرکت، مهاجرت می‌باشند و در تکامل جنینی، تخم‌ریزی، سیستم ایمنی، عکس-العمل‌های استرسی و مکانیزم سازگاری نقش بسیار مهمی دارند (Tocher, 2003).

روغن ماهی به جهت قابلیت هضم‌پذیری بالا و نیز محتوای بالای اسیدهای چرب بلند زنجیره غیر اشباع (LC-PUFAs) که جزء اسیدهای چرب ضروری در ماهیان دریایی است، عمده‌ترین منبع چربی در جیره‌های غذایی در صنعت آبرزی پروری است (Mu et al., 2020). اما استفاده از این روغن‌ها در تغذیه آبزیان دارای چندین اشکال است، به طوری که توسعه پایدار صنعت آبرزی پروری را دچار مشکل کرده است: اولاً با توجه به رشد سریع صنعت آبرزی پروری نیاز به روغن ماهی به عنوان منبع چربی در جیره‌های غذایی روز به

روز در حال افزایش می‌باشد (Tacon et al., 2011). پیش‌بینی شده است که تا سال ۲۰۵۰ کاهش شدیدی در صید تمامی گونه‌های وحشی آبزیان رخ خواهد داد و این امر می‌تواند صنعت آبرزی پروری را به دلیل عدم امکان تهیه روغن ماهی، تهدید نماید و آن را با نگرانی‌های شدید جهانی روبرو کند. نتیجه این کمبود، افزایش شدید قیمت روغن ماهی می‌باشد (Mu et al., 2020). ثانیاً به دلیل آلودگی‌های شدید آب‌های دریایی و اقیانوسی، ماهیان دریایی آلوده به سموم بسیار متنوع از جمله ترکیبات پلی‌کلروبی‌فنیل (PCBs) می‌باشند (Bell et al., 2012). لذا روغن ماهیان دریایی استفاده شده در جیره مهمترین عامل انتقال آلودگی‌های دریایی به ماهیان پرورشی و در نهایت انسان است که دارای اثرات سرطان‌زایی و تضعیف‌کننده سیستم ایمنی بر روی انسان می‌باشد (Jacobs et al., 2004). در حال حاضر صنعت خوراک آبزیان نیاز شدیدی به یافتن جایگزین‌های مناسب برای روغن ماهی و فرمولاسیون‌های جدید جیره بر اساس منابع جایگزین چربی دارد که علاوه بر تامین نیازهای تغذیه‌ای ماهی، تاثیرات جانبی منفی بر رشد، فراسنجه‌های خونی و عملکرد ایمنی و مقاومت به بیماری ماهی نداشته باشد (Navarro et al., 2018). روغن‌های گیاهی (روغن کانولا، بذر کتان،.....) و روغن‌های حیوانی (روغن خوک، طیور، پیه گوساله، روغن اردک،) می‌توانند جایگزین مناسبی برای روغن ماهی در جیره غذایی آبزیان باشند (Bureau et al., 2002). مطالعات مختلفی نشان داده که روغن‌های گیاهی به دلیل ویژگی‌هایی از جمله سهولت دسترسی، قیمت پایین و پایداری بالا نسبت به روغن ماهی می‌توانند جایگزین مناسب برای روغن ماهی باشد (Yildiz et al., 2018; Mu et al., 2020).

بر شاخص‌های فیزیولوژیک ماهی نظیر رشد، فراسنجه-های خون تاثیر بگذارد. همچنین مشخص شده که تشکیل سلول‌های خونی در حیوانات و عملکرد آنها، به جهت مدیریت تغذیه‌ای و عمدتاً به خاطر محتوا و مقدار روغن در جیره تغییر می‌کند و آگاهی از پاسخ-های خونی و هماتولوژی جیره‌های مختلف برای فرموله کردن جیره‌های جدید در صنعت آبزی‌پروری مفید است (Navarro et al., 2018). همچنین مطالعه برخی از ترکیبات استفاده شده در تغذیه ماهی نشان داد که این ترکیبات در پاسخ‌های ایمنی ماهی مفید هستند این ترکیبات محرک‌های ایمنی (Immunostimulants) نامیده می‌شوند که در بهبود و پیشرفت مدیریت بهداشتی و پیشگیری از بیماری ماهیان موثر است (Navarro et al., 2018; Han et al., 2012). اسیدهای چرب چند غیر اشباع ضروری نیز در این طبقه بندی قرار می‌گیرند (Navarro et al., 2018). لذا در این تحقیق سعی شده است با توجه به اهمیت تابلوی خونی و نیز پاسخ خونی و هماتولوژی ماهی در حین تغییر محتوای روغن جیره، تاثیر جایگزینی روغن ماهی جیره با روغن پیه گوساله، روغن گیاهی کانولا و مخلوط روغن پیه گوساله و روغن کانولا بر فراسنجه-های خون ماهی قزل‌آلای رنگین کمان برای حصول به یک جیره مناسب جایگزین روغن ماهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

کلیه مراحل اجرایی این تحقیق در کارگاه آموزشی و پژوهشی آبزی‌پروری دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر انجام شد. منبع تامین آب یه حلقه چاه عمیق واقع در دانشگاه بود. جهت انجام عملیات

روغن‌های گیاهی معمولاً حاوی مقادیر زیادی اسیدهای چرب چند غیر اشباع (PUFA) مانند لینولئیک اسید (LA, 18:2n-6) و آلفا لینولئیک اسید (LNA, 18:3n-3) می‌باشند، ولی عاری از اسیدهای چرب چند غیر اشباع بلند زنجیره (HUFA) می‌باشند. با همه اینها خیلی از ماهی‌های آب شیرین قادرند لینولئیک اسید و آلفا لینولئیک اسید را به HUFA تبدیل کنند (فرهودی و همکاران، ۱۳۹۰). مقادیر بالای اسید لینولئیک در روغن کانولا سبب شده است که این روغن پتانسیل بالایی جهت تبادلات درون سلولی ایکوزاپنتانوئیک اسید و دکوزاهگزانوئیک اسید را دارا باشد (Henderson and Sarget, 1985). استفاده از روغن‌های دامی هنوز به ندرت در صنعت آبزی‌پروری مورد استفاده قرار گرفته است و تنها چند مطالعه در این خصوص انجام شده است که می‌توان به تحقیق روی ماهی ماندترین جوان (*Siniperca scherzeri*) (Sankian et al., 2019)، سی‌باس اروپایی (*Dicentrarchus labrax*) (Monteiro et al., 2018)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Baweja and Babbar, 2015)، سیم دریایی (*Sparus aurata*) (Perez et al., 2014) و شاه‌ماهی دم‌زرد (*Seriola lalandi*) (Bowyer et al., 2012) و ماهی قزل‌آلای رنگین کمان جوان (Bayraktar and Bayir, 2012)، سیم دریایی پوزه تیز (*Diplodus puntazzo*) (Nogales-Mérida et al., 2011) اشاره نمود. جایگزینی منابع مختلف روغن (گیاهی و حیوانی) به جای روغن ماهی می‌تواند به جهت متفاوت بودن ترکیب اسیدهای چرب آنها، متفاوت بودن درجه اشباعیت، قابلیت هضم و ویژگی‌هایی نظیر دمای ذوب و وجود برخی عوامل ضد تغذیه‌ای در روغن‌های گیاهی

پرورشی از تعداد ۱۲ حوضچه فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری در کنار یکدیگر در محیط سالن استفاده شد. بچه‌ماهیان از یکی از مراکز پرورشی ماهیان سردابی استان گلستان تهیه شد. تعداد ۲۵۰ عدد ماهی با وزن متوسط حدود ۲۰ گرم انتخاب و بعد از آدپتاسیون به حوضچه‌های ۵۰۰ لیتری منتقل شد. قبل از انتقال ماهیان به حوضچه‌ها، وزن و طول کل ماهیان اندازه‌گیری شد. در هر یک از ۱۲ حوضچه فایبرگلاس ۵۰۰ لیتری تعداد ۲۰ عدد ماهی قرار داده شد. جهت بررسی اثرات جایگزینی روغن-های دامی و گیاهی به جای روغن ماهی چهار تیمار با ۳ تکرار به شرح زیر طراحی شد:

تیمار ۱ (شاهد): جیره حاوی ۱۰۰٪ روغن ماهی، تیمار ۲: جیره حاوی ۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن دامی (گوساله)، تیمار ۳: جیره حاوی ۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن گیاهی (کانولا)، تیمار ۴: جیره

حاوی ۵۰٪ روغن ماهی و ۲۵٪ روغن دامی - (گوساله) و ۲۵٪ روغن گیاهی (کانولا)
جیره‌های غذایی تحقیق بر اساس تیمارهای آزمایشی تهیه شد (جدول ۱). سپس جیره بر روی سطحی تمیز پخش شد تا در مجاورت هوا خشک شوند. سپس هر جیره در ظرف‌های جداگانه که قبلاً توسط برجسب کدگذاری شده بود، قرار داده شد. روغن ماهی و روغن گیاهی کانولا از شرکت‌های معتبر تهیه شد. چربی دامی (گوساله) از کشتارگاه‌های صنعتی تهیه و و طبق روش‌های معمول، روغن‌گیری شد. به این صورت که بعد از پاک کردن به قطعات کوچک‌تر بریده و درون ظرفی بر روی شعله کم قرار داده شد. بعد از ذوب شدن روغن، از صافی عبور داده و در یخچال نگهداری گردید. ترکیب شیمیایی جیره نیز در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱: اجزاء (گرم در کیلوگرم) جیره‌های غذایی فرموله شده مورد استفاده در تحقیق

اجزاء (گرم در کیلوگرم)	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
پودر ماهی	۳۶۰	۳۶۰	۳۶۰	۳۶۰
پودر سویا	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰
پودر گوشت	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
پودر طیور	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
آرد گندم	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰
روغن ماهی	۱۵۰	۷۵	۷۵	۷۵
چربی پیه گوساله	۰	۷۵	۰	۳۷/۵
روغن کانولا	۰	۰	۷۵	۳۷/۵
مکمل مخلوط ویتامین	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
مکمل مخلوط مواد معدنی	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵
لازین	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
میونین	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
کولین کلراید	۲	۲	۲	۲
بنتونیت	۱۵	۱۵	۱۵	۱۵

جدول ۲: ترکیب شیمیایی جیره‌های غذایی فرموله شده مورد استفاده در تحقیق

ترکیب شیمیایی (درصد)	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
پروتئین خام	۴۲/۰۰	۴۲/۳۰	۴۲/۲۰	۴۲/۲۸
چربی خام	۱۸/۳۵	۱۷/۹۵	۱۸/۲۰	۱۸/۱۵
فیبر خام	۲/۸	۲/۹	۳/۰	۳/۰
خاکستر	۸/۰۰	۷/۹۰	۸/۱۰	۷/۹۸
رطوبت	۱۰/۰۰	۹/۸۰	۹/۹۰	۹/۸۵
عصاره عاری از نیتروژن	۱۸/۸۵	۱۹/۱۵	۱۸/۷۰	۱۸/۷۴
انرژی ناخالص (کیلوژول در گرم)	۲۰/۵۱	۲۰/۴۸	۲۰/۴۸	۲۰/۴۸

ماهیان روزانه طبق جداول غذادهی در ۲ وعده صبح و عصر به صورت دستی به مدت ۹۰ روز غذادهی شد. بعد از هربار زیست‌سنجی و تعیین متوسط بیومس موجود در حوضچه‌ها میزان غذای مورد نیاز بر اساس وزن بدن ماهیان و با استفاده از جدول غذادهی تعیین شد. ویژگی‌های آب و شرایط محیطی شامل درجه حرارت (برحسب درجه سانتی‌گراد) و اکسیژن محلول (میلی گرم بر لیتر) به صورت روزانه توسط دستگاه اکسیژن‌سنج و دماسنج اندازه‌گیری و اطلاعات آنها ثبت شد.

در پایان دوره پرورش، پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان قطع تغذیه و اطمینان از دفع کامل محتویات لوله گوارش، نمونه‌برداری از ماهیان جهت خون‌گیری آغاز شد و برای این منظور ۶ عدد بچه‌ماهی بطور تصادفی از هر تیمار نمونه‌گیری شدند و در محلول عصاره گل میخک با دوز ۲۰۰ppm بی‌هوش و پس از خشک کردن آب بدن، خون‌گیری انجام شد. عملیات خون‌گیری با استفاده از سرننگ از سیاهرگ دمی (caudal vein) واقع در پشت باله مخرجی صورت گرفت. از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده مقداری

برای جداسازی سرم در نمونه‌های سرولوژی فاقد ماده ضدانعقاد تقسیم شدند. سپس با استفاده از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۵ دقیقه سرم جدا و با سمپلر در نمونه‌های کوچک تخلیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال و در شرایط فریزر (دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد) تا انجام آزمایش نگهداری شد (Kaushik et al., 2004).

آزمایش‌های هماتولوژی روی خون حاوی ماده ضدانعقاد هپارین انجام شد. فراسنجه‌های خونی مورد مطالعه به روش توصیه شده توسط Feldman و همکاران در سال ۲۰۰۰ شامل تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، هماتوکریت (PCV)، هموگلوبین (Hb)، حجم متوسط گلبولی (MCV)، هموگلوبین متوسط گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) بود. همچنین شمارش افتراقی گلبول‌های سفید شامل نوتروفیل، لنفوسیت، ائوزینوفیل و مونوسیت نیز انجام شد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ تحت سیستم عامل Windows در

سطح احتمال ۵٪ خطا انجام شد. جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها، تمام داده‌های بدست آمده توسط آزمون نرمالیتی Kolmogorov-Smirnov مورد سنجش قرار گرفت. سپس تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به شاخص‌های مختلف و مقایسه میانگین‌های فراسنجه‌های خونی از طریق آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (One way ANOVA) و آزمون دانکن (Duncan) انجام شد. همچنین جهت ترسیم نمودارهای مختلف از نرم افزار اکسل (Excel) استفاده شد.

نتایج

فراسنجه‌های خونی مربوط به گلبول‌های قرمز

در تحقیق حاضر، جایگزینی روغن پیه گاوی و روغن کانولا و نیز ترکیب آنها تا سطح ۵۰ درصد با روغن ماهی تفاوت معنی داری در تعداد گلبولهای قرمز، هموگلوبین و درصد هماتوکریت ایجاد کرد ($p \leq 0.05$). بیشترین تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین و درصد هماتوکریت متعلق به تیمار شاهد و کمترین تعداد در تیمار ۳ مشاهده شد (جدول ۴). نتایج تحقیق حاضر نشان داد، اختلافی در حجم متوسط یاخته‌ای (MCV)، متوسط وزن هموگلوبین گلبول (MCH) و متوسط غلظت هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) بین نمونه شاهد و تیمارهای مختلف وجود ندارد ($p > 0.05$) (جدول ۴).

جدول ۴: فراسنجه‌های خونی مربوط به گلبول‌های قرمز ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان هنگام جایگزینی جزئی روغن دامی (پیه گوساله) و گیاهی (کانولا) به جای روغن ماهی

فراسنجه‌های خون	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
گلبول قرمز (میلیون در میلی‌لیتر)	$2/347 \pm 0/068^c$	$2/067 \pm 0/040^b$	$1/920 \pm 0/030^a$	$1/997 \pm 0/074^{ab}$
هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)	$13/733 \pm 0/404^c$	$12/067 \pm 0/681^b$	$10/200 \pm 1/212^a$	$11/200 \pm 0/173^{ab}$
هماتوکریت (درصد)	$50/333 \pm 1/055^c$	$46/001 \pm 1/000^b$	$42/667 \pm 1/527^a$	$45/010 \pm 1/001^b$
MCV (فمتولیتر)	$217/233 \pm 1/721^a$	$222/033 \pm 4/119^a$	$220/500 \pm 10/859^a$	$226/667 \pm 5/564^a$
MCH (پیکوگرم)	$58/633 \pm 4/289^a$	$58/333 \pm 2/150^a$	$54/733 \pm 3/322^a$	$57/967 \pm 4/627^a$
MCHC (گرم در دسی‌لیتر)	$27/300 \pm 1/758^a$	$26/200 \pm 0/954^a$	$24/300 \pm 2/029^a$	$25/367 \pm 2/059^a$

داده‌ها به صورت میانگین شش تکرار $\pm$ انحراف معیار بیان شده‌اند؛ حروف لاتین مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح $p \leq 0.05$ می‌باشد.

فراسنجه‌های خونی مربوط به گلبول‌های سفید

در تحقیق حاضر، جایگزینی روغن پیه گاوی و روغن کانولا و نیز ترکیب آنها تا سطح ۵۰ درصد با روغن ماهی در تعداد گلبول‌های سفید اختلاف معنی داری بین تیمارها نداشت ($p > 0.05$). درصد افتراقی گلبولهای سفید نشان داد که جایگزینی روغن پیه

گوساله و روغن کانولا و ترکیب آنها تا سطح ۵۰ درصد باعث تغییر در سطح لنفوسیت و نوتروفیل شد ($p \leq 0.05$)، ولی در سطح مونوسیت و ائوزینوفیل اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p > 0.05$) (جدول ۵).

جدول ۵: فراسنجه‌های خونی مربوط به گلبول‌های سفید ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان هنگام جایگزینی جزئی روغن دامی (پیه گوساله) و گیاهی (کانولا) به جای روغن ماهی

فراسنجه‌های خون	تیمار ۱ (شاهد)	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
گلبول سفید (عدد در میلی‌متر مکعب)	۱/۶۴۰±۰/۰۹۲ ^{ab}	۱/۷۱۳±۰/۱۰۱ ^{ab}	۱/۵۴۳±۰/۰۸۵ ^a	۱/۷۶۷±۰/۰۸۱ ^b
لنفوسیت (درصد)	۸۲/۳۳۳±۲/۰۸۲ ^b	۷۶/۳۳۳±۲/۰۸۲ ^a	۷۴/۶۶۷±۲/۰۸۲ ^a	۷۵/۶۶۷±۲/۰۸۲ ^a
نوتروفیل (درصد)	۱۶/۳۳۳±۱/۵۲۷ ^a	۲۱/۶۶۷±۱/۵۲۳ ^b	۲۳/۰۰۰±۱/۰۱۰ ^b	۲۲/۱۲۵±۲/۶۴۵ ^b
مونوسیت (درصد)	۱/۰۰۰±۰/۵۵۷ ^a	۱/۳۳۳±۰/۴۵۲ ^a	۲/۰۰۰±۰/۵۲۷ ^a	۱/۶۶۷±۰/۳۷۷ ^a
ائوزینوفیل (درصد)	۰/۳۳۳±۰/۱۱۳ ^a	۰/۳۳۳±۰/۱۵۰ ^a	۰/۳۳۳±۰/۰۲۲ ^a	۰/۶۶۷±۰/۳۳۳ ^a

داده‌ها به صورت میانگین شش تکرار $\pm$ انحراف معیار بیان شده‌اند؛ حروف لاتین مشابه در هر ردیف نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح $p \leq 0.05$ می‌باشد.

بحث

این مطالعه با هدف بررسی جایگزینی روغن پیه گاو و روغن کانولا به جای روغن ماهی جیره بر فراسنجه‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان انجام شد.

ترکیبات خونی نشان دهنده وضعیت سلامتی و فیزیولوژی آبزیان است (Bani and Haghi-Vayghan, 2011). تغییر در فراسنجه‌های خونی، نشان دهنده شرایط نامساعد محیطی و یا وجود عوامل استرس‌زا در جیره و یا محیط پرورشی می‌باشد (Atmadi et al., 2016). فراسنجه‌های خون‌شناسی و بیوشیمیایی خون تحت تاثیر مواد غذایی جیره و سطوح مورد مصرف آنها می‌تواند تغییر کند (فلاح‌تکار، ۱۳۹۵).

در این مطالعه جایگزینی جزئی روغن پیه گوساله و روغن کانولا به جای روغن ماهی جیره، منجر به کاهش برخی فراسنجه‌های خونی گلبول‌های قرمز، نظیر تعداد گلبول قرمز، درصد هماتوکریت و هموگلوبین شد، به طوری که بیشترین تعداد گلبول قرمز و درصد هماتوکریت متعلق به تیمار شاهد و کمترین تعداد

گلبول قرمز و درصد هماتوکریت در تیمار ۳ (جیره حاوی ۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن گیاهی) مشاهده شد. تیمارهای مختلف از نظر تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند.

Navarro و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که در ماهی تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*) تغذیه شده با منابع مختلف روغن گیاهی (سویا، ذرت و کتان) تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با روغن ماهی کاهش یافت که با نتایج حاصل از این تحقیق هماهنگ می‌باشد. Babalola و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که در گربه-ماهی آفریقایی (*Heterobranchus longifilis*) تغذیه شده با منابع مختلف روغن گیاهی (پالم، سویا و مخلوط سویا و پالم) تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت خون و هموگلوبین در مقایسه با ماهیان تغذیه شده با روغن ماهی کاهش یافت، هر چند که تنها کاهش هموگلوبین معنی‌دار بود که از نظر کاهشی بودن این فراسنجه‌ها، هماهنگی با نتایج تحقیق حاضر است.

El- Hammady و Saad (۲۰۱۴) تاثیر جایگزینی روغن ماهی با روغن بذرکتان و روغن پیه گاو را با ۹ جیره غذایی متفاوت بر روی ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که بیشترین تعداد گلبول‌های قرمز در تیمار تغذیه شده با روغن ماهی بود و در بقیه تیمارها گاه تفاوت معنی‌دار و گاه فاقد تفاوت معنی‌دار با جیره شاهد بود. میزان هموگلوبین بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت و میزان هماتوکریت در بین بیشتر تیمارها نسبت به تیمار شاهد به طور معنی‌داری کمتر بود.

یکی از ویژگی‌های برجسته روغن ماهی در مقایسه با روغن‌های گیاهی و نیز روغن‌های حیوانی دارا بودن مقادیر بالای اسید چرب امگا-۳ می‌باشد (Navarro et al., 2012). مطالعات نشان دادند که اسیدهای چرب بلندزنجیره غیراشباع (LC-PUFAs) علاوه بر مفید بودن در ساختار غشاء سلولی بر پایداری اسمزی گلبول‌های قرمز ماهی نیز تاثیر موثر و مطلوب دارد (Lim et al., 2011). این اسیدهای چرب بلندزنجیره غیراشباع باعث افزایش نفوذپذیری، پایداری غشاء سلولی و نیز افزایش مقاومت دیواره سلولی گلبول‌های قرمز شده و به دنبال آن باعث افزایش درصد هماتوکریت می‌شود (Navarro et al., 2018). نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که کاهش سهم روغن ماهی در جیره و جایگزینی آن با روغن کانولا و پیه گوساله همراه با کاهش گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت در تیمارهای مختلف بود.

اما بر خلاف نتایج حاصل از این تحقیق و مطالعات Navarro و همکاران (۲۰۱۸)، Klinger و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند در زمان جایگزینی روغن ماهی

منه‌ادن در جیره غذایی گربه ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) با روغن پیه گاو، روغن سویا و ترکیب سه نوع روغن، تعداد گلبول‌های قرمز تفاوت معنی‌داری نداشت. آنها در این تحقیق منحنی شکنندگی اسمزی گلبول‌های قرمز (Osmotic fragility curve) را در مقادیر کم غلظت‌های مختلف نمک ترسیم کردند. این منحنی درصد همولیز (پاره شدن غیرطبیعی) گلبول‌های قرمز را در جیره‌های مختلف نشان می‌دهد، نتایج آنها بسیار مهم بود و نشان داد که گلبول‌های قرمز ماهیان تغذیه شده با روغن پیه گاو نسبت به لیز شدن (Lysis) بسیار حساس بودند و گلبول‌های قرمز ماهیان تغذیه شده با روغن ماهی کمترین حساسیت به لیز شدن را نشان دادند. آنها بیان کردند که غشا سلولی گلبول‌های قرمز در جیره‌هایی با نسبت بیشتر $n-3/n-6$ نفوذپذیری بیشتری از خود نشان می‌دهند. همچنین نسبت $n-3/n-6$ جیره‌ها با منحنی شکنندگی اسمزی گلبول قرمز (Osmotic fragility curve) نیز منطبق بود. به طوری که گلبول‌های قرمز ماهیان تغذیه شده با روغن پیه گاوی که کمترین نسبت $n-3/n-6$ در جیره را داشتند، در مقایسه با گلبول‌های قرمز ماهیان تغذیه شده با روغن ماهی که بیشترین نسبت $n-3/n-6$ در جیره را داشتند به طور معنی‌داری شکنندگی اسمزی بیشتری را نشان دادند و درصد لیز شدن گلبول‌های قرمز در آنها بیشتر بود. لذا با توجه به تحقیق Klinger و همکاران (۱۹۹۶) و نیز Navarro و همکاران (۲۰۱۸) علت پایین بودن تعداد گلبول قرمز، هموگلوبین و درصد هماتوکریت در جایگزینی روغن ماهی جیره با روغن پیه گوساله و روغن کانولا را در این تحقیق می‌توان به کاهش نفوذپذیری، کاهش مقاومت دیواره سلولی گلبول‌های قرمز و مستعد شدن آنها به همولیز گلبول‌های قرمز در

نتیجه کاهش اسیدهای چرب بلند زنجیره مفید امگا-۳ موجود در روغن ماهی نسبت داد.

در تحقیق حاضر کمترین تعداد گلبول قرمز و درصد هماتوکریت در تیمار ۳ (جیره حاوی ۵۰٪ روغن ماهی و ۵۰٪ روغن گیاهی) مشاهده شد که با تیمار شاهد و دو تیمار دیگر اختلاف معنی‌دار داشتند.

کاهش فراسنجه‌های خونی نظیر تعداد گلبول قرمز، درصد هماتوکریت و هموگلوبین نشانه‌های مهمی از بروز کم‌خونی (Anemi) در ماهیان استخوانی است (Witeska, 2015). Witeska (۲۰۱۵) گزارش کرد که، کم‌خونی در ماهیان می‌تواند به جهت معیوب شدن فرآیند تولید گلبول‌های قرمز (Erythroposis impaired)، تسریع همولیز (Accelerated hemolysis) و خون‌ریزی (Hemorrhage) و یا ترکیب این عوامل در ماهی رخ دهد. به هر حال همگی این عوامل تأثیر مشابهی دارند که همراه با کاهش غلظت هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز همراه است که متعاقباً باعث کاهش ذخایر اکسیژنی، کاهش رشد و تضعیف سلامت ماهی می‌شود (Witeska, 2015).

در تحقیق حاضر نیز کمتر بودن تعداد گلبول قرمز و درصد هماتوکریت در تیمار ۳ نسبت به تیمارهای دیگر می‌تواند، به علت وجود ترکیبات ضد تغذیه‌ای در دانه‌های روغنی باشد که خود باعث تأثیرات سوء در رشد، تغذیه ماهی و نیز فراسنجه‌های خونی آن می‌گردد. از جمله ترکیبات ضد تغذیه‌ای موجود در کنجاله کانولا که می‌تواند در روغن آن نیز یافت شود اسید اروسیک (Erucic acid)، اسید فنلیک، تانن‌ها و گلوکوزینولات‌ها و اسیدفایتیک است. یکی از مهم‌ترین خصوصیات روغن کلزا وجود اسید اروسیک می‌باشد. اسید اروسیک به عنوان یکی از

ترکیبات ضد تغذیه‌ای یک اسید چرب با ۲۲ کربن و یک پیوند دوگانه سیس (9- ω 22:1) می‌باشد. آزمایش‌های تغذیه‌ای بر روی حیوانات نشان داده است که روغن کلزا با اسید اروسیک بالا باعث ایجاد مشکلات قلبی، کاهش زنده‌مانی و افزایش کلسترول خون می‌شود (Renarid and McGregor, 1976). جایگزینی ۵۰ درصد روغن ماهی جیره با روغن کانولا در این تحقیق که با کاهش معنی‌دار گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت نسبت به تیمارهای دیگر همراه بود می‌تواند نشانه‌هایی از معیوب شدن فرآیند تولید گلبول‌های قرمز، تسریع همولیز و کم‌خونی ماهی باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد، اختلاف معنی‌داری در حجم متوسط گلبول‌های قرمز خون (MCV)، متوسط وزن هموگلوبین گلبول (MCH) و متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) بین نمونه شاهد و تیمارهای مختلف وجود ندارد. Klinger و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند در زمان جایگزینی روغن ماهی منهادن در جیره غذایی گربه‌ماهی کانالی با روغن پیه گاو، روغن سویا و ترکیب آنها، متوسط گلبول‌های قرمز خون (MCV) تفاوت معنی‌داری نداشت که هماهنگ با مطالعه حاضر می‌باشد.

Babalola و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که در گربه‌ماهی آفریقایی تغذیه شده با منابع مختلف روغن گیاهی (پالم، سویا و مخلوط سویا و پالم) فراسنجه‌های MCV و MCH تفاوت معنی‌داری در بین تیمارها نداشته و فراسنجه MCHC تنها در تیمار تغذیه شده با روغن سویا تفاوت معنی‌دار با شاهد داشت. نتایج این محققین در مورد فراسنجه‌های MCV و MCH با تحقیق حاضر هماهنگ می‌باشد.

در ماهیان همانند پستانداران گلبول‌های سفید خون نقش مهمی در دفاع غیراختصاصی دارند و به عنوان شاخص وضعیت سلامت ماهیان استفاده می‌شود. گلبول‌های سفید اجزای کلیدی و اصلی سیستم ایمنی هستند (Ballarin et al., 2004). این بدین معنی است که افزایش گلبول‌های سفید نشانگر افزایش ایمنی غیراختصاصی است (نوبهار و همکاران، ۱۳۹۲؛ حلاجیان و همکاران، ۱۳۹۴). همچنین افزایش گلبول‌های سفید موجب افزایش پدیده فاگوسیتوز و کمک به تولید آنتی‌بادی‌ها می‌گردد (یاراحمدی و همکاران، ۱۳۹۲؛ حسینی و همکاران، ۱۳۹۳).

در تحقیق حاضر، تعداد گلبول‌های سفید، مونوسیت‌ها و ائوزینوفیل‌ها بین تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد.

Karimi و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان دادند که تعداد گلبول‌های سفید (WBCs) در زمان جایگزینی روغن ماهی با بذر کتان در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغییر معنی‌داری نداشت که هماهنگی با مطالعه حاضر می‌باشد.

Klinger و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند در زمان جایگزینی روغن ماهی منهادن در جیره غذایی گربه-ماهی کانالی (*Ictalurus punctatus*) با روغن پیه گاو، روغن سویا و ترکیب سه نوع روغن، تعداد گلبول‌های سفید (WBCs) تفاوت معنی‌داری نداشت که منطبق با مطالعه حاضر می‌باشد.

احمدی‌فر و همکاران (۱۳۹۳) اثر جایگزینی روغن ماهی با دو نوع روغن آفتابگردان و سویا را در ماهی کلمه (*Rutilus rutilus*) بررسی کردند هیچ کدام از فراسنجه‌های مربوط به گلبول سفید تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نداد.

اما در مقابل Babalola و همکاران (۲۰۰۹) در زمان جایگزینی روغن ماهی با روغن آفتابگردان در جیره گربه‌ماهی (*Heterobranchus longifilis*) شاهد تفاوت معنی‌دار در تعداد گلبول‌های سفید بودند که دلیل آن را اختلاف در گونه، بالاتر بودن توانایی حمل اکسیژن و توانایی بالاتر این ماهی در استفاده از اسیدهای چرب امگا-۶ موجود در روغن گیاهی دانستند.

در مطالعه حاضر درصد لنفوسیت تیمارهای مختلف با تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار داشت و بیشترین درصد لنفوسیت متعلق به تیمار شاهد بود. Karimi و همکاران (۲۰۱۴) نیز نشان دادند که درصد لنفوسیت‌ها در زمان جایگزینی روغن ماهی با بذر کتان در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تغییر معنی‌داری نداشت، به طوری که مقدار این فراسنجه در شاهد بیشترین درصد را داشته است که از این لحاظ منطبق با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد. در این تحقیق، درصد نوتروفیل بین نمونه شاهد و تیمارهای مختلف، اختلاف معنی‌داری نشان داد و کمترین مقدار آن مربوط به نمونه شاهد بود.

در نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان داشت که جایگزینی به میزان ۲۵٪ روغن پیه گوساله و ۲۵٪ روغن کانولا به جای بخشی از روغن ماهی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تأثیر سوئی بر فراسنجه‌های خونی ندارد.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

۱. احمدی، ف.، ا.، فدایی، م.، عنایت غلامپور، ط.، ۱۳۹۳. اثرات منابع مختلف چربی جیره بر شاخص‌های رشد، پاسخ به تنش شوری و پارامترهای خونی در بچه‌ماهیان کلمه (*Rutilus rutilus caspius*). مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۷ (۲)، ۱۵۵-۱۶۴.
۲. فرهودی، آ.، ع.، عابدیان کناری، ر.م. نظری و چ. مخدومی. ۱۳۹۰. تغییرات پروفایل اسید چرب لارو کپور معمولی در مرحله رشد و تکامل لاروی. مجله منابع طبیعی ایران (شیلات)، ۶۴ (۲)، ۱۲۹-۱۴۳.
۳. فلاحتکار، ب.، راهداری، ع.، باقرپور، ا.، ۱۳۹۵. پاسخ‌های استرس و خون‌شناسی بچه‌ماهی کپور نقره‌ای (*Hypophthalmichthys molitrix*) به دستکاری‌های ناشی از صید. فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان، ۴ (۲)، ۵۷ تا ۷۴.
۴. حسینی، ع.ر.، اورجی، ح.، یگانه، س.، شهابی، ح.، ۱۳۹۳. تأثیر پروبیوتیک پدیوکوکوس اسیدی لاکتیزی روی رشد، فاکتورهای خونی و سرمی در ماهی آزاد دریای خزر. مجله علمی شیلات ایران، ۲۳ (۲)، ۳۵-۴۵.
۵. حلاجیان، ع.، بهمنی، م.، کاظمی، ر.ا.، دژندیان، س.، یوسفی جوردی، ا.، خزایی، ا.، ۱۳۹۴. مطالعه برخی شاخص‌های ایمنی خون تاسماهی ایرانی (*Acipenser persicus*) در آب سواحل استان مازندران. مجله علمی شیلات ایران، ۲۴ (۳)، ۱۹۱-۲۰۱.
۶. نوبهار، ز.، قلی‌پور کنعانی، ح.، جفریان، ح.ا.، ۱۳۹۲. تأثیر پودر خوراکی سیر بر پارامترهای خون-شناسی و رشد فیل‌ماهی (*Huso huso*). نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی، ۱ (۳)، ۳۹-۴۸.
۷. یاراحمدی، پ.، فرحمند، ح.، کلنگی‌میاندره، ح.، میرواقفی، ع.ر.، ۱۳۹۳. مطالعه پروفایل هماتولوژی و بیوشیمی سرم قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تغذیه شده با ایمونوژن. مجله شیلات (منابع طبیعی ایران)، ۶۷ (۲)، ۴۵۵-۴۶۵.
8. Atmadi, V.P., Hyung, J.R., Hwa Min, B., Gustiano, R., Young Jin, Y.C. 2016. Effects of different salinity levels on physiological and hematological response of rock bream *Oplegnathus fasciatus*. Indonesian Aquaculture Journal, 11, 75-79.
9. Babalola, T.O.O., Adebayo, M.A., Apata, D.F., Omotosho, J.S., 2009. Effect of dietary alternative lipid sources on hematological parameters and serum constituents of *Heterobranchius longifilis* fingerlings. Tropical Animal Health Production, 41, 371-377.
10. Babalola, T.O., Oyawale, F.E., Adejumo, I.O., Bolu, S.A., 2016. Effects of dietary fish oil replacement by vegetable oil on the serum biochemical and haematological parameters of African catfish (*Heterobranchius longifilis*) fingerlings. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 15(2), 775-788.
11. Ballarin, L., Dalloro, M., Bertotto, D., Libertini, A., Francescon, A., and Barbaro, A., 2004. Haematological parameters in *Umbriana cirrosa* (Teleostei, Scianidae): a comparison between diploid and triploid specimen. Comparative Biochemistry and Physiology A, 183, 45-51.
12. Bani, A., Haghi-Vayghan, A., 2011. Temporal variations in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*. Ichthyological Research, 58(2), 126-133.

- Lateolabrax japonicas*. Fish Physiology and Biochemistry, 38, 1785-1794.
21. Henderson, R.J., Sargent, J.R., 1985. Chain length specificities mitochondrial and peroxi-somal betaoxidation of fatty-acids in livers of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Comparative Biochemistry & Physiology Part B: Biochemical and Molecular. 82, 79-85.
 22. Jacobs, S.S., van Niekerk, W.A., Coertze, R.J. 2004. Qualitative evaluation of *Cenchrus ciliaris* cv. Molopo and Gayndah as foggage. South African Journal of Animal Science, 34 (5), 65-67.
 23. Kaushik, S.J., Coves, D., Dutto, G., Blanc, D., 2004. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. Aquaculture, 230, 391-404.
 24. Karimi, M.R., Ebrahimi, E., Mahboobi Soofiani, N., and Masiha, A., 2014. Replacement of Dietary Fish Oil with Flaxseed Oil and its Effects on Hematological and Biochemical Parameters of Rainbow Trout Fingerlings (*Oncorhynchus mykiss*). World Journal of Fish and Marine Sciences 6(3), 209-213.
 25. Klinger, R.C., Blazer, V.S., Echevarria, C., 1996. Effects of dietary lipid on the hematology channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquaculture, 147, 225-233.
 26. Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Klesius, P., 2011. Lipid and fatty acid requirements of tilapia. North American Journal of Aquaculture, 73, 188-193.
 27. Monteiro, M., Matos, E., Ramos, R., Campos, I., M.P. Valente, L., 2018. A blend of land animal fats can replace up to 75% fish oil without affecting growth and nutrient utilization of European seabass. Aquaculture, 487, 22-31.
 28. Mu, H., Wei, C., Xu, W., Gao, W., Zhang, W., Mai, K. 2020. Effects of replacement of dietary fish oil by rapeseed oil on growth performance, anti-oxidative capacity and inflammatory response in large yellow croaker *Larimichthys crocea*. Aquaculture Reports, 16: 100251.
 29. Navarro, R.D., Navarro, F.K.S. P., Ribeiroilho, O.P., Ferreira, W.M., Pereira, 13. Baweja, S., Babbar, B.K., 2015. Growth performance and tissue fatty acid composition of *Cyprinus carpio* (LINN.) reared on feeds containing animal fats as fish oil replacement. An International Quarterly of Life Sciences, 10(2), 655-660.
 14. Bayraktar, K., Bayir, A., 2012. The effect of the replacement of fish oil with animal fats on the growth performance, survival and fatty acid profile of rainbow trout juveniles, *Oncorhynchus mykiss*. Turkish Journal of Fish and Aquatic Sciences, 12, 661-666.
 15. Bell, J.G., Dick, J.R., Strachan, F., Guy, D.R., Berntssen, M.H.G., Sprague, M., 2012. Complete replacement of fish oil with a blend of vegetable oils affects dioxin, dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in 3 Atlantic salmon (*Salmo salar*) families differing in flesh adiposity. Aquaculture, 324-325, 118-126.
 16. Bureau, D., Gibson, J., El-Mowafi, A., 2002. Review: Use of Animal Fats in Aquaculture Feeds. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés M. G., Simoes N. (Eds.). Advances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposium.
 17. Bowyer, J.N., Qin, J.G., Smullen, R.P., Stone, D.A.J., 2012. Replacement of fish oil by poultry oil and canola oil in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) at optimal and suboptimal temperatures. Aquaculture, 356, 211-222.
 18. El-Hammady, A.K.I., Saad, A., 2014. Fish oil replacement and alternative flaxseed oil and beef tallow in male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. Life Science Journal, 11(12), 878-890.
 19. Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jian, N.C., 2000. Schalm's veterinary hematology. Lippincott Williams and Wilkins publication, Canada. pp: 1120-1125.
 20. Han, Y.Z., Ren, T.J., Jiang, Z.Q., Jiang, B.Q., Gao, J., Koshio, S., Komilus, C.F., 2012. Effects of palm oil blended with oxidized fish oil on growth performances, hematology, and several immune parameters in juvenile Japanese sea bass,

- (*Cyprinus carpio* L.). Veterinary, Anaesthesia and Analgesia, 42(5), 537-546.
38. Yildiz, M., Eroldoğan, T.O. Ofori-Mensah, S., Engin, K., Baltacı, M.A., 2018. The effects of fish oil replacement by vegetable oils on growth performance and fatty acid profile of rainbow trout: Re-feeding with fish oil finishing diet improved the fatty acid composition. Aquaculture, 488, 123-133.
 - M.M., Seixas Filho, J.T., 2012. Quality of polyunsaturated fatty acids in Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) fed with vitamin E supplementation. Food Chemistry, 134(6), 215-218.
 30. Navarro, D., Solis-Murgas, L., Costa, D., Fortes-Silva, R., Navarro, F., 2018. Hematological parameters for male Nile tilapia fed different oil sources. Bioscience Journal, 34, 978-984.
 31. Nogales-Mérida, S., Tomás-Vidal, A., Cerdá, M.J., Martínez-Llorens, S., 2011. Growth performance, histological alterations and fatty acid profile in muscle and liver of sharp snout sea bream (*Diplodus puntazzo*) with partial replacement of fish oil by pork fat. Aquaculture International, 19(5), 917-929.
 32. Pérez, J.A., Rodríguez, C., Bolaños, A., Cejas, J.R., Lorenzo, A., 2014. Beef tallow as an alternative to fish oil in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles: effects on fish performance, tissue fatty acid composition, health and flesh nutritional value. European Journal of Lipid Science Technology, 116 (5), 571-583.
 33. Renard, S., McGregor, L., 1976. Antithrombogenic effects of erucic poor rapeseed oils in the rats. Rev. Fr. Crops, 23, 393-396.
 34. Sankian, Z., Khosravi, S., Kim, Yi-Oh., Lee, S-M., 2019. Total replacement of dietary fish oil with alternative lipid sources in a practical diet for Mandarin fish, *Siniperca scherzeri*, juveniles. Fisheries and Aquatic Sciences, 22(8), 1-9.
 35. Tacon, A.G.J., Hasan, M.R., Metian, M., 2011. Demand and supply offeed ingredients for farmed fish and crustaceans: trends and prospects. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 564. Rome, FAO. 87 pp.
 36. Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. Reviews in Fisheries Science, 11, 107-184.
 37. Witeska, M., Dudyk, J., Natalia-Jarkiewicz, N., 2015. Haematological effects of 2-phenoxyethanol and etomidate in carp