Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 14:32 IRST on Monday January 23rd 2017

تأثیر پودر چای سبز (*Camellia sinensis*) بر برخی شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

شکوفه رنجبر[۱]
مژگان خدادادی[۲*]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد تکثیر و پرورش آبزیان، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
۲. دانشیار گروه شیلات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران
***مسئول مکاتبات:**
mjkhodadadi@gmail.com

کد مقاله: ۱۳۹۵۰۱۰۳۲۸
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۱۱
این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد.

چکیده

در این بررسی تأثیر عملکرد گیاه چای سبز (*Camellia sinensis*) به‌عنوان یک فیتوبیوتیک بر شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) موردبررسی قرار گرفت. تعداد ۳۶۰ عدد بچه ماهی کپور معمولی با میانگین وزن اولیه ۱±۲۲ گرم انتخاب و پس از سازگاری با محیط به‌صورت انتخابی در ۱۲ مخزن با ۳۰ قطعه بچه ماهی ذخیره شد. گیاه چای سبز در ۳ سطح ۱/۵ درصد (تیمار ۲)، ۳ درصد (تیمار ۳) و ۵ درصد (تیمار ۴) و جیره فاقد چای سبز برای تغذیه گروه شاهد (تیمار ۱) مورداستفاده قرار گرفت. هر تیمار در ۳ تکرار انجام گرفت. ماهیان روزانه به میزان ۳ درصد از وزن بدن مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان دوره پرورشی ۴۵ روزه تعداد ۱۵ قطعه ماهی از هر تیمار به‌صورت تصادفی انتخاب و خون‌گیری از محل قطع ساقه دمی انجام گرفت. شاخص‌های خونی شامل شمارش تعداد گلبول‌های قرمز (RBC)، شمارش تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، هماتوکریت (PCV) و هموگلوبین (Hb) موردبررسی قرار گرفتند و نتایج نشان داد که میزان گلبول‌های سفید، هماتوکریت و هموگلوبین اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها داشته است ($P<0/05$) و بیشترین میزان آن در تیمار ۱/۵ درصد به ترتیب به میزان ۱/۱۹±۷/۹۵ (تعداد در میکرو لیتر$\times 10^3$)، ۴/۸۷±۴۳/۷۳ (درصد) و ۰/۷۴±۶/۷۴ (گرم بر دسی لیتر) بوده است، ولی تعداد گلبول‌های قرمز تحت تأثیر هیچ‌کدام از موارد آزمایشی قرار نگرفت ($P>0/05$). به‌طورکلی تجویز پودر چای سبز در سطح ۱/۵ درصد به‌صورت خوراکی باعث تحریک برخی شاخص‌های خونی گردید و این ماده به‌عنوان یک محرک در بچه ماهی کپور معمولی قابل‌استفاده است.

واژگان کلیدی: چای سبز، *Camellia sinensis*، کپور معمولی، *Cyprinus carpio*، فاکتور خونی، هماتولوژی.

مقدمه

پارامترهای بیوشیمیایی و هماتولوژیکی خون به‌طور طبیعی برای ارزیابی وضعیت زیستی ماهی مورداستفاده قرار می‌گیرد و شاخص مناسبی از وضعیت فیزیولوژیک ماهی محسوب می‌شود (خواجه و همکاران، ۱۳۸۶). با در نظر گرفتن این نکته که یکی از حیاتی‌ترین بخش‌های بدن جانداران، خون می‌باشد (Feist *et al*., 2004)، آگاهی از وضعیت خونی ماهیان و بخصوص شناخت اثر محیط‌های جدید پرورشی بر شاخص-های خونی می‌تواند ما را در پیشبرد اهداف حفظ، تکثیر، نگهداری و پرورش این ماهیان یاری نماید (هدایتی و همکاران، ۱۳۸۷). خصوصیات هماتولوژی در ماهیان می‌تواند شاخصی از شرایط طبیعی و غیرطبیعی محیط بوده و در گونه‌های مختلف ماهیان می‌تواند به‌عنوان شاخص مهم ماهی‌شناسی مدنظر قرار گیرد (Svetina *et al*., 2002). امروزه یکی از روش‌های مؤثر در پیشگیری و کنترل این‌گونه بیماری‌ها و آلودگی‌ها استفاده از انواع محرک‌های ایمنی گیاهی می‌باشد و اخیراً در آبزی‌پروری استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان محرک‌های ایمنی جهت تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهیان پرورشی رایج شده است (Rao *et al*., 2006) که اغلب این محرک‌های گیاهی مورداستفاده در آبزیان

www.SID.ir
Archive of SID

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 14:32 IRST on Monday January 23rd 2017

فاقد هرگونه اثرات منفی موجود در داروهای ضد باکتریایی و واکسن‌ها بر محیط‌زیست هستند و چون اکثراً جزو ترکیبات طبیعی محسوب می‌شوند باقی‌مانده‌های دارویی نامطلوبی ایجاد نمی‌کنند (Dugenci *et al*., 2003). در چند دهه اخیر استفاده از گیاهان دارویی با توجه به مزیت‌های متعدد، ازجمله خطرات جانبی کمتر بر موجود زنده و محیط‌زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان، پایدار و در دسترس بودن توجهات زیادی را در سطح جهان به‌ویژه کشورهای پیشرفته به خود جلب نموده است (رجحان، ۱۳۸۷). ازاین‌رو در بین محرک‌های ایمنی متعدد، محرک‌های ایمنی با منشأ گیاهی دارای ارجحیت می‌باشد (Iwama, 1996) که یک گروه از این افزودنی‌ها فیتوبیوتیک‌ها هستند. فیتوبیوتیک‌ها مشتقات گیاهی هستند که ترکیبات طبیعی آن‌ها به جیره غذایی اضافه‌شده و منجر به افزایش فعالیت جانوران می‌شود. این اجزا گیاهی (مانند ترکیبات فنلی و فلاوانوئید) می‌توانند اثرات متعدد روی ارگانیسم‌ها داشته باشند (Cristea *et al*., 2012).

چای سبز از برگ‌های گیاه *Camellia sinensis* تهیه می‌شود (نصیری‌راد و همکاران، ۱۳۸۷) و به‌عنوان یک گیاه دارویی موردتوجه قرارگرفته است. مهم‌ترین خواص آن ضد سرطان، ضدالتهابی، ضد باکتریایی، آنتی‌اکسیدان و ضدویروسی اشاره کرد (Weber *et al*., 2003). چای سبز حاوی ویتامین C است که سبب عملکرد صحیح هتروفیل‌ها می‌شود (Stephen, 2005; Babu *et al*., 2007; Nie *et al*., 2007)؛ و نیز ترکیبات اسیدآمینه (مانند لیزین و پرولین) موجود در چای سبز (خدادادی، ۱۳۶۹؛ موثقی، ۱۳۸۷) سبب ساخته‌شدن پروتئین‌های سلولی می‌گردد. از طرفی دیگر چای سبز حاوی گلیکوپروتئین و کربوهیدرات است (خدادادی، ۱۳۶۹؛ موثقی، ۱۳۸۷؛ Khan and Mukhtar, 2007)؛ و همچنین حاوی ویتامین B (B_6, B_2, B_1) است که در تشکیل آنتی‌بادی مؤثر بوده (Stephen, 2005; Babu *et al*., 2007; Nie *et al*., 2007)، نیز می‌باشد. از سویی دیگر چای سبز به علت دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان یک مهارکننده عوامل ویروسی و باکتری عمل می‌کند (Nie *et al*., 2007; Etemadi *et al*., 2008). کاتچین‌های موجود در چای سبز بخصوص اپی گالو کاتچین گالات و گلیکوپروتئین موجود در آن سبب ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود (Ojagh *et al*., 2005; Nie *et al*., 2007). مطالعات تغذیه‌ای نقش کلیدی برخی از مواد مغذی حاوی آنتی‌اکسیدان در سیستم ایمنی بدن ماهی را نشان می‌دهد. مواد مغذی دخیل مربوط به این سیستم شامل پروتئین‌ها، اسیدهای چرب ضروری، پلی‌ساکاریدها، ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان C و E، برخی مواد مؤثر مانند روی و سلنیوم می‌شود (Martinez-Alvarez *et al*., 2005; Verlhac Trichet, 2010; Amar *et al*., 2004). جلبک‌ها، گیاهان، عصاره‌های گیاهی غنی از پلی‌فنول‌ها، عصاره چای سبز و روغن‌های ضروری نیز برای تقویت سیستم ایمنی بدن و بهبود بیماری مقاومت در برابر بیماری در آبزی‌پروری مورداستفاده قرار می‌گیرد (Amar *et al*., 2004). از طرفی برجسته‌ترین مواد موجود در چای سبز پلی فنول‌ها می‌باشد، بسیاری از پلی‌فنول‌ها مانند کاتچین می‌تواند واکنش‌های ایمنی را با تعدیل واکنش‌های ضدالتهابی سیتوکینین‌ها و غیره و یا توسط مواد مؤثره فعال در سلول‌های سیستم ایمنی بدن را تنظیم کنند (Wen *et al*., 2011; Mir and Agrewala, 2008). چای سبز به علت دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان یک مهارکننده عوامل ویروسی و باکتری‌ها عمل می‌کند (Etemadi *et al*., 2008). کاتچین‌های موجود در چای سبز بخصوص اپی گالو کاتچین گالات و گلیکوپروتئین موجود در آن سبب ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود (Ojagh *et al*., 2005)؛ و همچنین ویتامین B (B_6, B_2, B_1) موجود در این گیاه با اثرگذاری بر روی گلبول‌های سفید و تشکیل آنتی‌بادی‌ها سبب کارایی بهتر آن‌ها (Stephen, 2005; Babu *et al*., 2007; Nie *et al*., 2007; Koopman, 1995) در آبزیان خواهد شد.

لازم به ذکر است که چای سبز مانند بسیاری از منابع پروتئینی گیاهی دربردارنده عوامل ضد تغذیه‌ای است که ممکن است عملکرد ماهی را محدود کند و ازجمله مواد ضد تغذیه‌ای فیبرها که باعث افت کیفیت خوراک می‌گردد و الیگوساکاریدها هستند (Higgs *et al*., 1995) و عقیده بر این است که کاتچین‌ها که اجزای پلی فنولی چای سبز هستند علاوه بر اثرات مفید ذکرشده، می‌توانند از طریق مهار تخریب نوراپی نفرین موجب شوند که چای گرما تولید نماید و این اثر کاتچین‌ها، اکسایش را در میتوکندری‌ها افزایش و تولید همزمان ATP را کاهش می‌دهند و به این وسیله گرما تولید می‌کنند. مکانیسم دیگر این است که کاتچین‌ها ممکن است ایجاد عروق و بافت چربی را مهار کند

www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 14:32 IRST on Monday January 23rd 2017

(Diepvens *et al*., 2007). همچنین گمان می‌رود که افزایش مصرف انرژی با میزان کافئین موجود در این گیاه ارتباط دارد (Shixian *et al*., 2006).

مطالعات متعددی در رابطه با اثر مشتقات چای سبز بر روی ماهیان متفاوت انجام گردیده که اغلب سبب بهبود شرایط خونی و ایمنی و بیوشیمیایی در آن‌ها گردیده است. ازجمله این بررسی‌ها می‌توان به تحقیقات مختلفی که شامل، ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (Cristea *et al*., 2012; Sheikhzadeh *et al*., 2011)، کفشک زیتونی (Cho *et al*., 2007) *Oreochromis niloticus* (Abdel-Tawwab *et al*., 2010) و هامور (Harikrishnan *et al*., 2011) اشاره کرد.

در تحقیقات مختلف اثرات گیاهان مختلف بر روی فاکتورهای خونی گزارش گردیده است. با مروری بر مطالعات انجام‌شده در این زمینه به نظر می‌رسد استفاده از گیاهان دارویی به‌عنوان محرک‌های ایمنی جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها، واکسن‌ها و ترکیبات سنتزی باشند (Ardo *et al*., 2008; Rao *et al*., 2006). به‌گونه‌ای که بسیاری از محققین تأثیر مواد فیتوبیوتیک را بر روی گونه‌های مختلف ماهیان بررسی کرده‌اند اما بااین‌حال اطلاعات جامع و کاملی در خصوص اثرات جیره‌های حاوی مقادیر مختلف از گیاهان دارویی در دسترس نیست. لذا این تحقیق سعی دارد اثرات جیره‌های مختلف حاوی چای سبز بر روی شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی را موردبررسی قرار دهد.

مواد و روش‌ها

این بررسی در مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز به مدت ۴۵ روز انجام شد. در مراحل انجام کار پارامترهای آب شامل اسیدیته، دما و اکسیژن روزانه توسط دستگاه مولتی‌متر Az instrument مدل ۸۶۰۳ و شوری آب توسط شوری سنج مدل ۸۳۷۱ به‌صورت روزانه ثبت شد. به‌منظور طراحی و آماده‌سازی مکان تحقیق ۱۲ عدد تانک یکسان و مشابه با حجم ۳۰۰ لیتری در غالب ۴ تیمار با ۳ تکرار و هر تانک ۳۰ عدد ماهی با میانگین وزنی ۱±۲۲ گرمی تقسیم‌بندی گردیدند. بعد از تیمار بندی و سازگاری ماهیان غذادهی ۳ بار در طول روز به‌طور دستی و با توجه به شرایط روشنایی روز انجام‌گرفته است (افشار مازندران، ۱۳۸۹). در طول دوره پرورشی جهت تغذیه تیمارها از ۴ نوع جیره غذایی: تیمار ۱ (شاهد)، تیمار ۲ (۱/۵ درصد)، تیمار ۳ (۳ درصد) و تیمار ۴ (۵ درصد) استفاده گردید (Cho *et al*., 2007) و همچنین به‌منظور متعادل کردن سطح انرژی و فیبر جیره به هنگام افزودن پودر چای سبز به جیره پایه از سبوس گندم به‌عنوان پرکن استفاده گردید. ازنظر سطح انرژی یکسان بودند (Lee *et al*., 2000). در طول دوره پرورش به‌منظور تغذیه تیمارها از ۴ نوع جیره متفاوت به شرح زیر استفاده گردید:

تیمار ۱: جیره پایه آزمایشی بدون افزودن پودر چای سبز (به‌منظور یکسان نمودن سطح انرژی ترکیبات به تیمار شاهد ۵۰ گرم سبوس گندم اضافه گردید).

تیمار ۲: جیره پایه آزمایشی به همراه ۱/۵ درصد پودر چای سبز (۱۵ گرم) + ۳۵ گرم سبوس گندم در هر کیلوگرم از جیره.

تیمار ۳: جیره پایه آزمایشی به همراه ۳ درصد پودر چای سبز (۳۰ گرم) + ۲۰ گرم سبوس گندم در هر کیلوگرم از جیره.

تیمار ۴: جیره پایه آزمایشی به همراه ۵ درصد پودر چای سبز (۵۰ گرم) و بدون سبوس گندم در هر کیلوگرم از جیره.

ترکیب آنالیز شیمیایی جیره مورداستفاده در طول دوره پرورشی در جدول ۱ آمده است.

www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 14:32 IRST on Monday January 23rd 2017

جدول ۱: ترکیب آنالیز شیمیایی جیره مورداستفاده در طول دوره پرورش.

	چربی خام درصد	پروتئین خام درصد	خاکستر درصد	رطوبت درصد	فیبر خام درصد
تیمار شاهد (بدون پودر چای سبز)	۱۱/۶۲	۳۴/۲۵	۲/۶۳	۱۲/۱۹	۴/۱۶
تیمار ۲ (۱/۵ درصد پودر چای سبز)	۱۱/۴۹	۳۵/۷۵	۲/۹۴	۱۲/۰۸	۴/۹۱
تیمار ۳ (۳ درصد پودر چای سبز)	۱۱/۵۵	۳۵/۳۷	۲/۷۹	۱۲/۲۳	۵
تیمار ۴ (۵ درصد پودر چای سبز)	۱۲/۳۳	۳۵/۲۹	۳	۱۲/۱۲	۵/۰۹

به‌این‌ترتیب در ابتدا هر یک از اجزای جیره ۳ بار آسیاب شده و با الک با چشمه بسیار ریز عبور داده شد تا پودر صاف و یکدستی درست شود (سپس خوراک هر تیمار به همراه آب به شکل خمیر درآمده و با چرخ‌گوشتی به شکل رشته درآمده و پس از خشک شدن به‌صورت جداگانه نگهداری گردید). همچنین به‌منظور حفظ کیفیت غذای مصرفی، جیره‌ها هر دو هفته یک‌بار تهیه گردیده‌اند (مورکی و همکاران، ۱۳۹۱).

عملیات زیست‌سنجی ۲ بار در طول کل دوره انجام گرفت، مرحله ابتدایی زیست‌سنجی در آغاز بررسی و مرحله دوم زیست‌سنجی در پایان دوره (۴۵ روزه) انجام گرفت.

جهت انجام خون‌گیری از ۲۴ ساعت قبل غذادهی به‌منظور جلوگیری از بروز استرس قطع گردید. در انتهای دوره پرورشی از هر تانک ۵ عدد ماهی به‌صورت تصادفی انتخاب و خون‌گیری از ناحیه ساقه دمی انجام شد و نمونه‌های خون جمع‌آوری‌شده تحت شرایط سرما تا انجام آزمایش‌های نهایی نگهداری شدند (Banaee *et al*., 2004). برای شمارش گلبول‌های قرمز تا درجه ۰/۵ پی‌پت ملانژور قرمز خون کشیده می‌شد و سپس تا درجه ۱۰۱ با محلول رقیق‌کننده نات – هریک رقیق می‌گردید (نسبت رقت ۱ به ۲۰۰) و سپس نمونه رقیق‌شده به لام هموسیتومتر نئوبار منتقل و پس از صرف زمان ۵ دقیقه برای ته‌نشین شدن گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های قرمز با بزرگ‌نمایی ۴۰ در پنج مربع ثانوی از مربع اولیه مرکزی شمارش و تعداد سلول شمارش‌شده در ضریب رقت یعنی عدد ۱۰۰۰۰ ضرب می‌گردید و تعداد گلبول‌های قرمز در میلی‌لیتر مکعب خون محاسبه شد (Thrall , 2004). شمارش کلی گلبول‌های سفید (Total white Blood Cell) به روش مستقیم (هموسیتومتر) و همانند شمارش کلی گلبول‌های سفید پرندگان با رقیق کردن خون به نسبت ۱ به ۲۰۰ با محلول رقیق‌کننده نات– هریک صورت گرفت. برای این کار و پس از انتقال نمونه رقیق‌شده به لام هموسیتومتر تعداد گلبول‌های سفید در ۹ مربع بزرگ اولیه شمارش می‌گردید و سپس تعداد کل گلبول‌های سفید در میلی‌متر مکعب خون با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Thrall , 2004).

تعداد کل گلبول‌های سفید در میکرو لیتر خون= (تعداد کل گلبول‌های سفید شمارش‌شده در ۹ مربع بزرگ + ۱۰ درصد) × ۲۰۰

به‌منظور اندازه‌گیری و تعیین حجم هماتوکریت از لوله‌های مویینه میکروهماتوکریت استفاده شد و پس از پر شدن لوله‌های مویینه از خون، به داخل سانتریفیوژ میکرو هماتوکریت منتقل گردیده و به مدت ۵ دقیقه در حداقل ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و با استفاده از خط کش مخصوص هماتوکریت خوانده شد. برای محاسبه مقدار هماتوکریت از این روش، درصد حاصله را در عدد ۰/۰۱ ضرب کرده تا مقدار هماتوکریت برحسب لیتر در لیتر خون به دست آید (Feledman *et al*., 2000).

جهت اندازه‌گیری هموگلوبین از روش سیانومت هموگلوبین استفاده گردیده که ۲ میکرو لیتر از نمونه خون در لوله آزمایشگاه ریخته و به آن ۵ میلی‌لیتر محلول درآبکین افزوده شد. سپس حدود ۲ میلی‌لیتر از محلول را در دستگاه اسپکتروفتومتری با طول‌موج ۵۴۰ نانومتر قرار داده و عدد حاصله خوانده شد (Feledman *et al*., 2000).

$$\text{Hg(گرم بر دسی لیتر)} = \frac{\text{(رقت)} \times 64500 \times \text{جذب محلول سیانو مت هموگلوبین}}{44 \times d \times 1000}$$

www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 14:32 IRST on Monday January 23rd 2017

اندیس‌های گلبولی یعنی حجم متوسط گلبولی (MCV)، میزان متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) با استفاده از فرمول‌های استاندارد زیر محاسبه می‌گردید (Thrall, 2004).

MCV=۱۰×هماتوکریت (درصد) / تعداد گلبول‌های قرمز برحسب میلیون در میلی‌متر مکعب

MCH=۱۰ × هموگلوبین (گرم در دسی لیتر) / تعداد گلبول‌های قرمز برحسب میلیون در میلی‌متر مکعب

MCHC=۱۰۰×هموگلوبین (گرم در دسی لیتر) / هماتوکریت (درصد)

برای آنالیز آماری نتایج تحقیق از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۰ استفاده گردید. برای مقایسه میانگین‌ها در بین تیمارها و نیز معنی‌دار بودن تفاوت بین میانگین‌ها از روش آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و تست تکمیلی دانکن در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ استفاده شد. کلیه نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردید.

نتایج

نتایج بررسی‌های هماتولوژیک نمونه‌های اخذشده از تیمارهای مختلف در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان داد که تعداد گلبول‌های سفید، هماتوکریت و هموگلوبین در سطح ۱/۵ درصد بیشترین میزان را داشته‌اند و در تمام تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (P<۰/۰۵). میزان گلبول‌های قرمز در تیمارهای مختلف مورد آزمایش در طی دوره پرورشی بیشترین میزان مربوط به تیمار ۱/۵ درصد پودر چای سبز است ولی در بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردیده است (P>۰/۰۵).

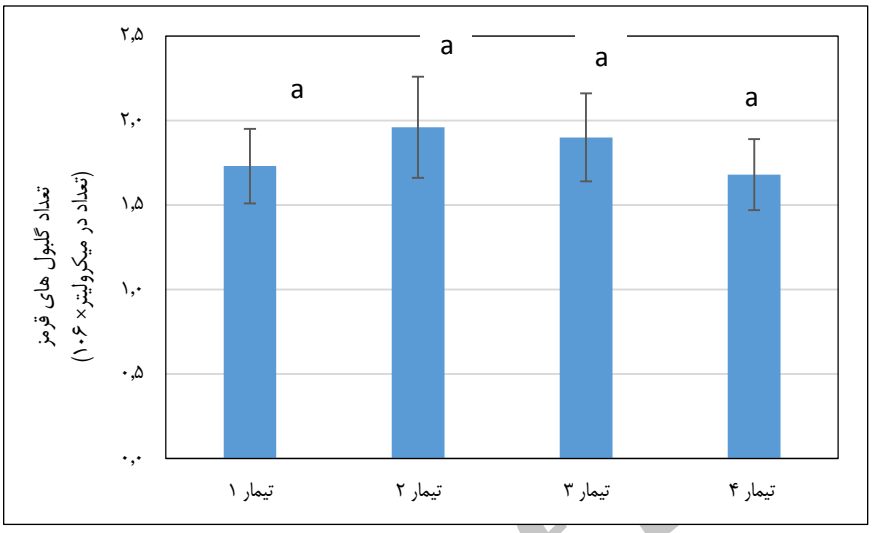
جدول ۲: بررسی شاخص‌های خونی ماهیان کپور معمولی در طی ۴۵ روز دوره‌ی پرورش متعاقب افزودن سطوح مختلف برگ چای سبز به جیره.

	گلبول‌های قرمز (RBC) (تعداد در میکرو لیتر× $۱۰^{۶}$)	گلبول‌های سفید (WBC) (تعداد در میکرو لیتر× $۱۰^{۳}$)	هماتوکریت (PCV) (درصد)	هموگلوبین (Hb) (g/dl)	حجم متوسط گلبولی (MCV) (فمتولیتر)	متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) (پیکوگرم)	غلظت متوسط هموگلوبین (MCHC)
تیمار شاهد	۱/۷۳±۰/۲۲^{a}	۵/۵۶±۱/۰۳^{a}	۴۰/۱۳±۳/۱۸^{a}	۵/۸۹±۰/۳۹^{a}	۱۰۰/۹۶±۱۹/۰۲^{a}	۲۵/۶۶±۲/۵۸^{a}	۲۴/۹۳±۰/۵۷^{b}
تیمار ۱ (۱/۵ درصد)	۱/۹۶±۰/۳۰^{a}	۷/۹۵±۱/۱۹^{b}	۴۳/۷۳±۴/۸۷^{b}	۶/۷۴±۰/۷۴^{b}	۱۱۹/۷۴±۱۱/۲۵^{ab}	۳۴/۳۹±۳/۹۲^{a}	۲۰/۱۸±۰/۲۵^{a}
تیمار ۲ (۳ درصد)	۱/۹۰±۰/۲۶^{a}	۶/۲۶±۱/۲۸^{a}	۳۹/۶۰±۳/۱۳^{a}	۶/۵۵±۰/۵۸^{ab}	۱۱۷/۳۷±۲۰/۱۱^{b}	۲۲/۴۷±۳/۷۱^{a}	۱۷/۲۲±۰/۶۰^{a}
تیمار ۳ (۵ درصد)	۱/۶۸±۰/۲۱^{a}	۴/۵۶±۰/۹۶^{a}	۳۷/۵۳±۵/۰۴^{a}	۶/۲۱±۰/۳۶^{ab}	۱۲۵/۱۲±۲۶/۱۹^{b}	۲۵/۱۸±۴/۳۶^{a}	۱۵±۰/۳۳^{a}

ردیف‌های دارای حروف همنام لاتین ازنظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵).

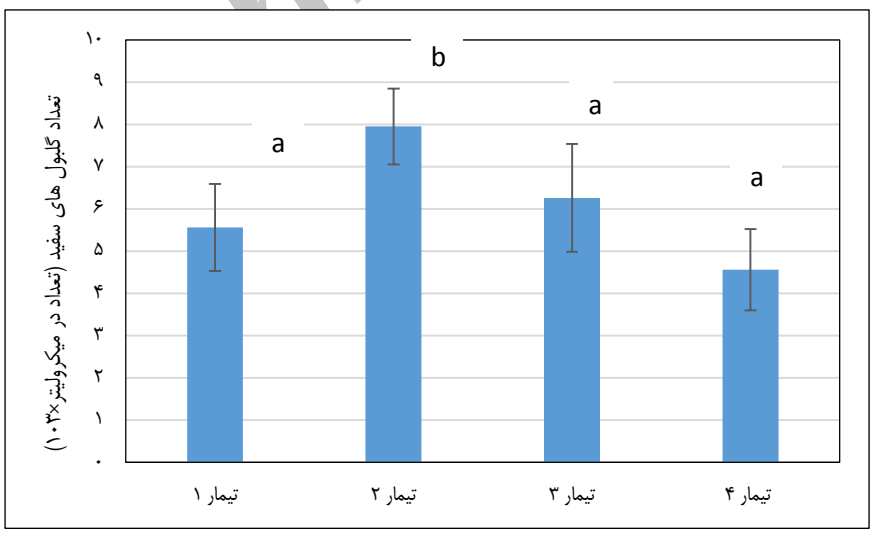
www.SID.ir

میزان درصد گلبول‌های قرمز (RBC) در اثر استفاده از پودر چای سبز سبب تغییر در میزان درصد گلبول‌های قرمز گردید، به صورتی که بیشترین میزان آن در تیمار ۱/۵ درصد و کمترین آن در تیمار ۵ درصد بوده است، اما اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید (P>۰/۰۵) (شکل ۱).



شکل ۱: مقایسه گلبول‌های قرمز خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش داده‌شده در تیمارهای پودر چای سبز در طی ۴۵ روزه دوره‌ی پرورشی، تابستان و پاییز ۱۳۹۳.

میزان گلبول‌های سفید (WBC) و هماتوکریت (PCV) در گروه‌های تغذیه‌شده با پودر چای سبز تیمار ۱/۵ درصد با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری ایجاد کرد (P<۰/۰۵). به‌گونه‌ای که در هر دو فاکتور بیشترین میزان در تیمار ۱/۵ درصد و کمترین میزان آن در تیمار ۵ درصد مشاهده گردیده است (شکل‌های ۲ و ۳).

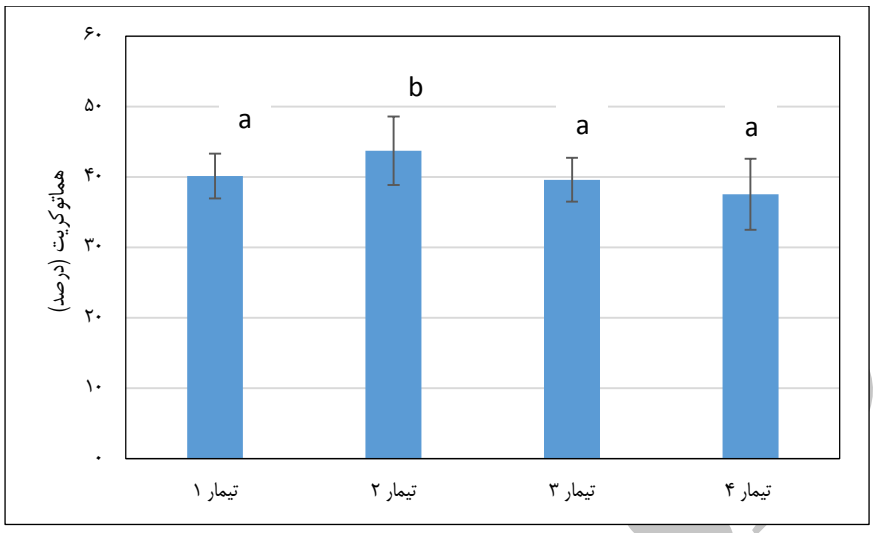


شکل ۲: مقایسه گلبول‌های سفید خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش داده‌شده در تیمارهای پودر چای سبز در طی ۴۵ روزه دوره‌ی پرورشی، تابستان و پاییز ۱۳۹۳.

www.SID.ir

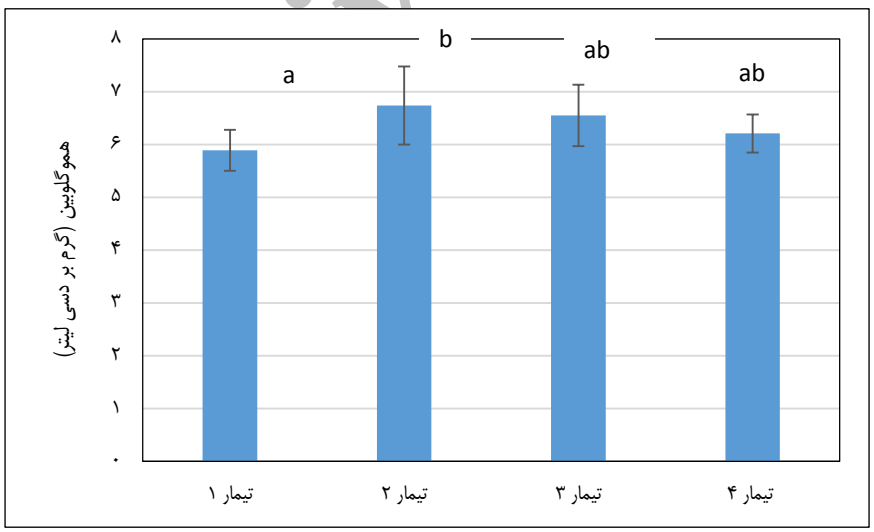
Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 14:32 IRST on Monday January 23rd 2017

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 14:32 IRST on Monday January 23rd 2017



شکل ۳: مقایسه هماتوکریت خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش داده‌شده در تیمارهای پودر چای سبز در طی ۴۵ روزه دوره‌ی پرورشی، تابستان و پاییز ۱۳۹۳.

تجویز خوراکی پودر چای سبز باعث تغییر میزان درصد هموگلوبین (Hb) گردید و اختلاف معنی‌داری را ایجاد کرد (P<۰/۰۵). کمترین میزان مربوط به تیمار شاهد بوده و بیشترین میزان آن در تیمار ۱/۵ درصد مشاهده‌شده است (شکل ۴).



شکل ۴: مقایسه هموگلوبین خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرورش داده‌شده در تیمارهای پودر چای سبز در طی ۴۵ روزه دوره‌ی پرورشی، تابستان و پاییز ۱۳۹۳.

www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 14:32 IRST on Monday January 23rd 2017

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه به بررسی تأثیر چای سبز بر روی شاخص‌های خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) به‌عنوان یک مکمل غذایی فیتوبیوتی ک که دارای خاصیت فنولی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی و غیره بوده است انجام گردید و سعی بر آن شده است که با نتایج سایر محققین که بر روی دیگری از مواد فیتوبیوتیک ازجمله سیر، زنجبیل، دارچین، عصاره گیاه خار مریم و دیگر مواد گیاهی محرک شاخص‌های خونی و ایمنی که دارای خواص به نسبت مشابهی هستند تحقیق نموده‌اند، مقایسه‌ای انجام گیرد.

گلبول‌های قرمز ماهیان فراوان‌ترین عناصر سلولی خون ماهیان را تشکیل می‌دهند و وظیفه عمده آن‌ها حمل اکسیژن از آب‌شش‌ها به بافت می‌باشد (Thrall, 2004). در بررسی پودر چای سبز، میزان گلبول قرمز در تیمارهای مورد آزمایش هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری ایجاد نشد (P>۰/۰۵). البته تغییراتی در میزان آن مشاهده گردید به صورتی که بیشترین میزان آن مربوط به تیمار ۱/۵ درصد به میزان ۱/۹۶±۰/۳۰ بوده است. با نظر به اینکه چای سبز دارای خواص ضد باکتریایی (Guo *et al*., 2012) و آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی و محرک هضم و ضدعفونی‌کننده است (Banon and Sanda, 2008; Hara, 2001; Kumamoto and Sonda, 1998; Talpur, 2012) علت عدم بوجودآمدن اختلاف معنی‌دار می‌تواند در سطح مقادیر مورداستفاده- گونه- شرایط غذادهی و پرورشی و یا تعداد وعده‌های غذادهی در ماهی بوده باشد و همچنین می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که مواد محرک سیستم ایمنی، لزوماً نمی‌توانند اثر معنی‌داری بر شاخص‌های هماتولوژیک داشته باشد (تنگستانی و همکاران، ۱۳۹۰). این نتیجه به‌دست‌آمده با تحقیقی که توسط Salaby و همکاران در سال ۲۰۰۶، به بررسی اثر سیر به‌عنوان یک مکمل غذایی بهبوددهنده سیستم ایمنی بر روی ماهی تیلاپیا پرداختند، مغایرت دارد.

تعداد گلبول سفید و ترکیبات آن از شاخص‌های مهم سلامتی ماهی و یکی از بخش‌های اصلی سیستم ایمنی غیراختصاصی سلولی هستند (احمدی فر و همکاران، ۱۳۸۸) که نشان‌دهنده وجود یا عدم وجود عفونت و نوع واکنش بدن به عفونت و دیگر عوامل فیزیولوژیک و پاتولوژیک می‌باشد (سراجیان و همکاران، ۱۳۸۶). ازجمله عوامل مؤثر بر تعداد گلبول سفید می‌توان به استرس، بیماری- عوامل آلاینده، تغذیه، شرایط اکولوژیک، سن و جنس اشاره کرد (قهرمان، ۱۳۷۵). ازآنجایی‌که چای سبز به‌عنوان خوراک موردبررسی قرارگرفته توانسته بر روی سطح گلبول-های سفید خون تأثیرگذار باشد. به‌این‌ترتیب به دلیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (Banon and Sanda, 2008; Hara, 2001; Kumamoto and Sonda, 1998)، ویتامین C و ویتامین‌های گروه B (B_1, B_2, B_6) (خدادادی، ۱۳۶۹؛ موثقی، ۱۳۷۸)، ویتامین E موجود در چای سبز باعث بالا رفتن میزان گلبول‌های سفید و افزایش سیستم دفاع ایمنی غیراختصاصی آن می‌شود. به‌گونه‌ای که ویتامین C جهت عملکرد صحیح نوتروفیل‌ها (هتروفیل‌ها) که جزو گلبول‌های سفید هستند می‌شود (Stephen, 2005; Babu *et al*., 2007; Nie *et al*., 2007). همچنین ویتامین‌های گروه B سبب کارکرد صحیح سلول‌های سفید خون و تشکیل آنتی‌بادی‌های خون ضروری هستند شده (Stephen, 2005; Babu *et al*., 2007; Nie *et al*., 2007) و فعالیت ضد میکروبی و ضدعفونی‌کنندگی چای سبز در مقابل عوامل بیماری‌زا و تأثیر در افزایش پاسخ ایمنی بدن با اثرگذاری بر تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند مؤثر باشد (Rattanachaikunsopon and Phumkhachorn, 2010). بر اساس نتایج مطالعه حاضر موجود در جدول ۲ میزان گلبول سفید در گروه‌های تغذیه‌شده با پودر چای سبز اختلاف معنی‌داری در گروه ۱/۵ درصد را با سایر گروه‌های موردبررسی نشان داد (P<۰/۰۵)، بیشترین میزان گلبول سفید در ماهیان تغذیه‌شده با جیره حاوی ۱/۵ درصد پودر چای سبز به میزان ۷/۹۵±۱/۱۹ و کمترین آن در گروه ۵ درصد به میزان ۴/۵۶±۰/۹۶ بوده است. Harikrishnan و همکاران در سال ۲۰۱۱ به بررسی تأثیر رژیم غذایی غنی‌شده با چای سبز و تأثیر آن بر روی ایمنی ذاتی هومورال و پاسخ ایمنی سلولی در ماهی هامور کلپ آلوده به ویبریو کارچاریاه پرداختند و مشاهده کردند که اضافه کردن چای سبز در غلظت ۰/۰۱ و ۰/۱ درصد اثر مثبتی بر روی افزایش پاسخ ایمنی هومورال و سلول‌های غیراختصاصی و مقاومت در برابر بیماری در طی هفته‌های ۲ و ۴ را ایجاد می‌کند. درعین‌حال اثر مثبتی بر روی میزان ایمنی اختصاصی نداشته و به این‌گونه با نتایج حاصل از این بررسی به‌صورت کلی مشابه بوده است، به‌صورت که در این بررسی میزان ۵ درصد توانسته بر روی ماهی کپور معمولی بیشترین اثر را بگذارد که به دلیل نوع تغذیه ماهی کپور در مقابل ماهی هامور باشد، چراکه اساساً کپور

www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 14:32 IRST on Monday January 23rd 2017

ماهی همه‌چیزخوار بوده و از منابع گیاهی که حاوی مقادیر بالای کربوهیدرات است را بهتر می‌تواند بهره ببرد. علیشاهی و همکاران در سال ۱۳۹۰، در بررسی خوراکی عصاره خار مریم (*Silybum marianum*) بر پاسخ‌های ایمنی ماهی کپور و مطالعه مورکی و همکاران در سال ۱۳۹۱ که بررسی اثر کاربرد پودر دارچین به‌عنوان مکمل رشد در جیره غذایی ماهی گرین ترور (*Andinocara rivulatus*) بر شاخص‌های هماتولوژی انجام داده‌اند با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت دارد.

افزودن پودر چای سبز در سطح ۱/۵ درصد در جیره باعث افزایش معنی‌دار در میزان هماتوکریت و هموگلوبین شده است به‌گونه‌ای که بیشترین میزان آن‌ها به ترتیب ۴/۸۷±۴۳/۷۳ درصد و ۰/۷۴±۶/۷۴ گرم بر دسی لیتر بوده است. این اختلاف می‌تواند ناشی از عوامل مختلف ازجمله شرایط آزمایش، گونه ماهی، سطوح مختلف آزمایش و نحوه تغذیه ماهی و طول دوره پرورش باشد (مورکی و همکاران، ۱۳۹۱). علت این اختلاف همچنین می‌تواند با خاصیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی چای سبز مرتبط باشد که این ترکیبات سبب افزایش معنی‌داری در شاخص-های هماتولوژیک شامل هموگلوبین و هماتوکریت می‌شود (Borges *et al*., 2004). افزایش غلظت هموگلوبین بر قابلیت انتقال گازهای تنفسی در خون و بازده قلب مؤثر است. با توجه به اینکه افزودن پودر چای سبز در این بررسی افزایش معنی‌داری در شاخص‌های هموگلوبین و هماتوکریت را نشان داد توانست سبب برتری وضعیت تنفسی به‌خصوص در تیمارهای حاوی ۱/۵ درصد پودر چای سبز در مقایسه با سایر تیمارها گردد. چای سبز دارای خاصیت ضد میکروبی است و بر اساس تحقیقات قاسمی پیر بلوطی و همکاران در سال ۱۳۹۰ که بر روی گیاه مرزه خوزستانی انجام دادند نشان داده شد که خاصیت ضد میکروبی موجود در این گیاهان سبب افزایش معنی‌داری در شاخص‌های هموگلوبین و هماتوکریت می‌گردد. بر این اساس نتایج حاصل از این بررسی با مطالعاتی دیگر که توسط علیشاهی و همکاران در سال ۱۳۸۸، اثر گیاه ارگوسان و سرخارگل را بر روی ماهی اسکار (*Astronotus ocellatus*) و Dorucu و همکاران در سال ۲۰۰۹، اثر دانه‌های زیره سیاه (*Nigella sativa*) را بر روی پاسخ ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان بررسی نمودند مطابقت دارد.

نتایج کلی این پژوهش نشان داد که پودر چای سبز بر روی تعداد گلبول‌های قرمز موجود در سرم خون ماهی مؤثر نبوده ولی بر روی تعداد گلبول‌های سفید خون اثر مثبتی را نشان می‌دهد. به‌گونه‌ای که عمدتاً تیمار تغذیه‌شده در سطح ۱/۵ درصد (۱۵ گرم پودر چای سبز به ازای هر کیلوگرم جیره پایه) بیشترین توانایی را برای ایجاد اختلاف معنی‌دار نشان داده است ($P<0/05$).

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از همکاری مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز در فراهم نمودن شرایط انجام پایان‌نامه تشکر و قدردانی نموده و همچنین از همکاری رییس وقت دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی و ریاست وقت مرکز تکثیر واحد اهواز در انجام پایان‌نامه صمیمانه تشکر می‌نمایند.

منابع

احمدی فر، ا.، جلالی، م. ع.، سوداگر، م.، آذری تاکامی، ق. و محمدی زرج‌آباد، ا.، ۱۳۸۸. اثرات آکوآک آرگوسان (*AquaVac Ergosan*) بر میزان رشد. بازماندگی و شاخص‌های مربوط به خون در ماهیان جوان (*Huso huso*). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد شانزدهم. ویژه‌نامه ۱-الف، سال ۱۳۸۸. صفحات ۸۰-۷۲.

افشار مازندران، ن.، ۱۳۸۹. راهنمای عملی تغذیه و نهاده‌های غذایی و دارویی آبزیان در ایران، انتشارات نوربخش، تهران، ۲۱۶ ص.

تنگستانی، ر.، علیزاده، ا. و زارع، پ.، ۱۳۹۰. اثر اسانس سیر بر شاخص‌های مواتولوژی فیل‌ماهی. مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۶، شماره ۳، صفحات ۲۱۶-۲۰۹.

www.SID.ir

خدادادی، ر.، ۱۳۶۹. چای. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۹ – ۳.

خواجه، غ.، مصباح، م. و پیغان، ر.، ۱۳۸۶. مطالعه برخی پارامترهای بیوشیمیائی سرم خون ماهی بنی (*Barbus sharpeyi*) و کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*) پرورشی. مجله دامپزشکی ایران، شماره ۴، صفحات ۲۲-۱۴.

رجحان، م. ص.، ۱۳۸۷. دارو و درمان گیاهی. انتشارات فرهیختگان علوی. چاپ پنجم. ص ۲۸۷.

سراجیان، ش.، زمینی، ع.، یوسفیان، م.، سعیدی، ع. ا. و جعفری، ع.، ۱۳۸۶. بررسی مقایسه‌ای سطوح برخی از هورمون‌های استروئیدی جنسی سرم خون در مولدین نارس و بالغ کفال طلایی دریای خزر (*Liza auratus*). مجله شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر. سال اول، پیش‌شماره سوم، پاییز ۱۳۸۶، صفحات ۶۰-۵۱.

علیشاهی، م.، سلطانی، م.، مصباح، م. و اسمعیلی راد، ا.، ۱۳۹۰. تأثیر تجویز خوراکی عصاره خار مریم (*Silybum marianum*) بر پاسخ ایمنی کپور معمولی، مجله تحقیقات دامپزشکی، دوره ۶۶، شماره ۳، صفحات ۲۶۳-۲۵۵.

علیشاهی، م.، مصباح، م.، نجف زاده، ح. و خواجه، غ. ح.، ۱۳۸۸. اثر اکیناسه پورپورآ (*Echinacea purpurea*) بر پاسخ ایمنی ماهی کپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*). طرح تحقیقاتی دانشگاه شهید چمران اهواز، شماره طرح ۶۱۹.

قاسمی پیربلوطی، ع.، پیر علی، ا.، پیشکار، غ. ر.، جلالی، س. م. ع.، رئیسی، م.، جعفریان ده‌کردی، م. و حامدی، ز. ب.، ۱۳۹۰. اثر اسانس گیاهان دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه داروهای گیاهی، شماره ۲، صفحات ۱۵۵ – ۱۴۹.

قهرمان، ا.، ۱۳۷۵. کاریوفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی). مرکز نشر دانشگاهی تهران، جلد دوم.

موثقی، م.، ۱۳۸۷. شکل‌گیری، ساختار و فعالیت سازمان چای کشور. اولین همایش بین‌المللی چای، انتشارات ماهنامه خورنوش، صفحات ۱۸۶-۱۸۰.

مورکی، ن.، روزی، ی.، ذریه زهرا، ج. و صافی، ش.ا.، ۱۳۹۱. بررسی اثر کاربرد پودر دارچین به‌عنوان مکمل رشد در جیره غذایی ماهی گرین ترور (*Andinocara rivulatus*) بر شاخص‌های هماتولوژی. اولین کنفرانس ملی راهکارهای دستیابی به توسعه پایدار در بخش‌های کشاورزی، منابع طبیعی و محیطزیست، تهران، ایران.

نصیری راد، ر.، حداد خداپرست، م. ح.، الهامی راد، ا. ح. و روفیگری حقیقت، ش.، ۱۳۸۷. بررسی تغییرات میزان کل ترکیبات فنولیک در چای سبز ایرانی دم آوری شده. هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، مشهد مقدس.

هدایتی، س.ع.ا.، باقری، ط.، یاوری، و.، بهمنی، م. و علیزاده، م. ۱۳۸۷. بررسی برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون فیل‌ماهیان پرورشی در آب لب‌شور (*Huso huso*). مجله زیست‌شناسی دریا، جلد ۲۱، شماره ۴، صفحات ۶۶۶-۶۵۸.

Abdel-tawwab, M. M. H., Ahmad, M. E., Seden, A. and Saker, S. F. M., 2010. Use of green tea, *Camellia sinensis* L., in practical diet for growth and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila infection.* Journal of the World Aquaculture Society, 41, 203-213.

Amar, E. C., Kiron, V. Satoh, S. and Watanabe, T., 2004. Enhancement of innate immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) associated with dietary intake of carotenoids from natural products. Fish Shellfish Immunol; 16:527.37.

A**rdo, L., Yin., G., Xu, O., Varadi, L., Szigeti, G., Jeney, Z. and Jeney, G., 2008.** Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture. 275: 26-33.

Babu, P. V. A. and Ekambaram Sabitha, K., 2007. Green tea attenuates diabetes induced Maillard- type fluorensece and collagen cross-linking in the heart of strepozotocin. Pharmacol Res, 55: 433-40.

Banaee, M., Sureda, A., Mirvagefii, A. R. and Rafei, G. R., 2004. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus myksiss*). Fish Physiol Biochem, 9486-z.(Article inpress).

Banon, R. and Sande, C., 2008. Firs record of the red cornet fish Fistularia petimba (*Syngathiformes fistularidae*) in Galician waters: A northermos occurrence in the easternAtlantice. Journal of Applied Ichthyology, 24, 106-107.

Borges, A., Scotti, L. V., Siqueira, D. R., Jurinitz, D. F. and Wassermann, G. F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for hundia (Rhamdiquelem), Fish. Physiol, Biochem, 30: 21-25.

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 14:32 IRST on Monday January 23rd 2017

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 14:32 IRST on Monday January 23rd 2017

Cho, S. H., Lee, S., Park, B. H., Ji, S., Lee, J., Bae, J. and Oh, S., 2007. Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of the juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. J Fish Physiool Biochem. 33:49 –57.

Cristea, V., Antache, A., Grecu, I., Docan, A., Dediu, L. and Mocanu, M., 2012. The Use Of Phytobiotics In Aquaculture. University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Iasi. Pp. 250-255.

Csala, M., Margittai, E., Senesi, S., Gamberucci, A. and Banhegyi, G., 2007. Inhibition of hepatic glucose 6-phosphatase system by the the green tea flavanol epigallocatechin gallate. FEBS Lett, 581: 1693-98.

Diepvens, K., Westerterp, K. R. and Westerterp- Plantenga. M. S., 2007. Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 292: R77 – 85.

Dorucu, M., Ozesen Colak, S., Ispir, U., Altinterim, B. and Celayir, Y., 2009. The effect of Black Cumin Seeds, *Nigella sativa*, on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Mediterranean Aquacuilture Journal., 2(2): 1-7.

Dugenci, S. K., Arda, N. and Cand, A., 2003. Some medicinal plants as immune stimulants for fish. Journal of Ethnopharamacology, 88: 99-106.

Etemadi, H., Rezaei, M. and Abedian, Kenary, A. M., 2008. Antibacterial and antioxidant potential of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on shelf life extension of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J.FST.5: 67-77.

Feist, G., Van Enennaam, J. P., Doroshov, S. I., Schreck, C. B. and Scheider, R. P., 2004. Early indentification of sex in cultured white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) using plasma steroid levels. Aquaculture, 232: 581-590.

Feledman, B. F., Zinkl, L. G. and Jian, N. C., 2000. Schalms Veterinary hematology 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, PP: 1120-1124.

Guo, J. J., kuo, C. M., Chuang, Y. C., Hong, J. W., Chou, R. L. and Chen, T. I., 2012. The effects of garlicsupplemented diets on antibacterial activity against *Streptococcus iniae* and on growth in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides.* Aquaculture, 364-365, pp: 33-38.

Hara, Y., 2001. Green tea health benefits and applications. Marcel Dekker Inc, New York.

Harikrishnan, R., Balasundaram, C., and Heo, M. S., 2011. Influence of diet enriched With green tea on innate humoral and cellular immune response of kelp grouper *(Epinephelus bruneus)* to *Vibrio carchariae* infection. Fish and Shellfish Immunology, 30: 972-979.

Higgs, D. A., Dosanjh, B. S., Prendergast, A. F., Beames, R. M., Hardy, R. W., Riley, W. and Deacon, G., 1995. Use of rapeseed/canola protein products in finfish diets. In: Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture, (C.E. Lim & D.J. Sessa, Eds), AOCS Press, Champaign, IL, 130-156.

Iwama, G., 1996. and Nakanishi, T., The fish immune system. Academic Press, London. Chapter 3:innate Immunity in fisj, pp: 73-114.

Khan, N. and Mukhtar, H., 2007. Tea polyphenols for health promotion. Life Sci, 81: 519-33.

Koopman, C.F., 1995. Cutaneous wound healing: an overview. Otalaryngol Clin N Am 1995. 28: 835-45.

Kumamoto, M. and Sonda, T., 1998. Evaluation of the antioxidative activity of tea by an oxygen electrode method. Biosci. Biotechnol. Biochem, 62: 175 – 177.

Lee, J., Duan, W., Long, J. M., Ingram, D. K. and Mattson, M. P., 2000. Dietary restriction increases the number of newly generated neural cells, and induces BDNF expression, in the dentate gyrus of rats. Journal of Molecular Neuroscience, *15*(2): 99-108.

Martinez-Álvarez, R. M., Morales, A. E. and Sanz, A., 2005. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. Rev Fish Biol Fish; 15:75-88.

Mir, M. A. and Agrewala, J. N., 2008. Dietary polyphenols in modulation of the immune system. In: Vassallo N, editor. Polyphenols and health: new and recent advances. Nova Science Publishers, p: 245-72.

Archive of SID
www.SID.ir

Nie, S. H., Xie, M., Zhihong, F. U., Wan, Y. and Yan, A., 2007. Study on the purification and chemical compositions of tea glycoprotein. Carbohydrate Polymers, 71:626-33.

Ojagh, S. M., Sahari, M. A. and Rezaaei, M. 2005. Effect of natural antioxidants on quality of common kilka (*Clupeonella cultriventris caspia*) during storage with ice. J.marine science and technology. 4: 1-7.

Rao, Y. Y., Das, B. K., Iyotymayee, P. and Chakrabarti, R., 2006. Effect of *Achyranthes aspera* Achyranthes aspera on the imunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. Fish and Shellfish Immunology, 20: 265-273.

Rattanachaikunsopon, P. and Phumkhachorn, P., 2010. Potenial of cinnamon (*Cinnamomum verum*) oil to control Streptococcus iniae infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish Science. 76: 287-293.

Salaby, S., Das, B. K., Pradhan, I., Mohapatra, B. C., Mishra, B. K. and Sarangi, N., 2006. Effect Magnifera Indic Kernel asa feed additive on imunity and resistance to *Aeromoas hydrophila* in *Labeo rohita* finger lings. Fish Shell fish immunol. 23: 109-118.

Sheikhzadeh, N., Nofouzi, K., Delazar, A. and Khani Oushani, A., 2011. Immunomodulatory effects of decaffeinated green tea (*Camel- lia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish and Shellfish Immunology, 31, 1268–1269.

Shixian, Q., VanCrey, B., Shi, J., Kakuda, Y. and Jiang, Y., 2006. Green tea extract thermogenesis-induced weight loss by epigallocatechin gallate inhibition of catechol-O-methyltransferase. J. Med. Food. 9: 451-8.

Stephen, H., 2005. Green tea and the skin. J Am Acard Dermatol, 52: 1049-59.

Svetina, A., Matasin, Z., Tofant, A., Vucemilo, M. and Fijan, N., 2002. Haematology and some blood chemical parameters of young carp Till the age of three years, Acta Veterinaria Hungarica, 50: 459-467.

Talpur, A. D., 2012. Ikhwanuddin., Dietary effects of garlic (*Allium sativum*) on haemato-immunological parameters, survival, growth, and disease resistance against *Vibrio harveyi* infection in Asian sea bass, *Lat*es *calcarifer* (Bloch). Aquaculture, 364-365: 6-12.

Thrall, M. A., 2004. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry, Lppincott Williams and Wilkins, USA, pp. 241, 277-288, 402.

Verlhac Trichet, V., 2010. Nutrition and immunity: an update. Aquacult Res; 41:356-72.

Weber, J. M., Ruzindana-Umunyana, A., Imbeault, L. and Sircar, S., 2003. Inhibition of adenovirus infection and adenain by green tea catechins. Antiviral Res 58:167e73.

Wen, Z. S., Xu, Y. L., Zou, X. T. and Xu, Z. R., 2011. Chitosan nanoparticles act as an adjuvant to promote both Th1 and The immune responses induced by ovalbumin in mice. Mar Drugs, 9:1038-55.

Downloaded from jweb.iauahvaz.ac.ir at 14:32 IRST on Monday January 23rd 2017

Archive of SID

www.SID.ir