



# اثر ترکیب پلی فنل کاتشین موجود در چای سبز بر عملکرد رشد، برخی شاخص‌های خونی و موکوسی ماهی کاراس معمولی (*Carassius carassius*)

مرضیه حیدریه<sup>۱\*</sup>، نجمه شیخ زاده<sup>۲</sup>

۱- گروه دامپزشکی و علوم دامی، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج، ایران

۲- گروه بهداشت مواد غذایی و آبریان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۱۸

تاریخ ارسال: ۱۳۹۸/۰۹/۰۴

## چکیده

در مطالعه حاضر تأثیرات کاربرد کاتشین موجود در چای سبز از طریق تغذیه بر عملکرد رشد، متابولیسم و برخی از پارامترهای موکوسی بافت پوست در ماهی کاراس معمولی (*Carassius carassius*) ارزیابی گردید. تعداد ۷۲ ماهی سالم با میانگین وزنی  $0.36 \pm 0.03$  گرم به طور تصادفی به ۲ تیمار با ۳ تکرار و گروه شاهد (در هر گروه ۱۲ ماهی) تقسیم شدند. ماهیان به مدت ۴۵ روز با ۲ سطح ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک مورد تغذیه قرار گرفتند. پس از بررسی اختلاف معنی‌داری در عملکرد رشدی بین ۲ گروه تیمار و گروه شاهد مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). برخی پارامترهای سرمی شامل گلوکز، تری‌گلیسیرید و میزان کلسترول کل در هر تیمار نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشتند ( $P < 0.05$ ). پارامترهای ایمنی موکوسی، به طور ویژه لیزوزیم و آلکالین فسفاتاز فعالیت بالاتری را در هر دو تیمار نسبت به گروه شاهد نشان دادند ( $P < 0.05$ ). میزان فعالیت آنزیم پروتئاز تنها در دوز ۵۰۰ میلی‌گرم کاتشین در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ( $P < 0.05$ ). براساس نتایج به دست آمده در این تحقیق می‌توان بیان نمود که کاتشین موجود در چای سبز به ویژه دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خوراک می‌تواند بر بهبود پارامترهای ایمنی موکوسی بافت پوست در ماهی کاراس معمولی تأثیرگذار باشد.

واژگان کلیدی: ماهی کاراس معمولی، کاتشین موجود در چای سبز، عملکرد رشد، ایمین موکوسی، پارامترهای بیوشیمیایی



## Effects of polyphenolic compound green tea catechin on growth performance, some biochemical and mucosal indices in crucian carp (*Carassius carassius*)

M. Heidarieh<sup>1\*</sup>, N. Sheikhzadeh<sup>2</sup>

*1-Department of Veterinary and Animal Science, Nuclear Agricultural School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Karaj, Iran*

*2-Department of Food Hygiene and Aquatic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran*

Received: 25-Dec-2019

Accepted: 08-Jan-2020

### Abstract

The present study was performed to evaluate the effects of diets supplemented with green tea catechin on growth performance, metabolism, and some mucosal immune parameters in crucian carp (*Carassius carassius*). Seventy-two healthy fish with mean weight  $8.03 \pm 0.36$  g were randomly distributed into three treatment groups with three replicates in each group and 12 fish in each aquarium. Fish in treatment groups were administrated with 100 and 500 mgkg<sup>-1</sup> catechin for 45 days. Results showed that growth performance did not change in treatment groups compared to the control group ( $P > 0.05$ ). Serum biochemical parameters including glucose, triglyceride, and total cholesterol levels in both treatment groups decreased with respect to the control group ( $P < 0.05$ ). Mucosal immune parameters, namely lysozyme and alkaline phosphatase showed higher activity in both treatment groups compared to the control group ( $P < 0.05$ ). In contrast, protease activity increased in higher dose group in comparison with the control group ( $P < 0.05$ ). The results indicated that green tea catechin, especially at 500 mg kg<sup>-1</sup>, could exert beneficial effects on some biochemical parameters and skin mucosal immunity in crucian carp.

**Keywords:** crucian carp; green tea catechin; growth; mucosal immunity; biochemical parameters

## ۱. مقدمه

امروزه با توجه به افزایش روزافزون جمعیت جهان، تقاضا برای محصولات آبرزی بیشتر شده است. یکی از مهمترین راه‌های تأمین این محصولات، آبرزی پروری و پرورش متراکم آبریان است. پرورش متراکم آبریان منجر به افزایش احتمال ابتلای آنها به بیماری‌های مختلف می‌شود (Ebrahimi and Beiraghdar, 2002). یکی از روش‌های مؤثر در پیشگیری و شاهد بیماری‌ها و آلودگی‌ها استفاده از انواع محرک‌های ایمنی است.

اخیراً در آبرزی پروری استفاده از گیاهان دارویی به عنوان محرک‌های ایمنی به منظور تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی ماهیان پرورشی رایج شده است (Rao et al., 2006). از این میان توجه خاصی به گیاهان دارویی مختلف حاوی ترکیبات فنولی و آلکالوئیدی شده است (Rizvi et al., 2005). چای سبز جزء شاخه *Angiosperm* رده *Dialypetalae*، راسته *Parital*، خانواده *Teacae* و جنس *Camellia* است و با نام علمی *Camellia sinensis* شناخته می‌شود. چای سبز به عنوان یک گیاه دارویی حاوی کاتشین‌ها، فلاونول‌ها، فلاونون‌ها و اسیدهای فنولی رنگدانه‌های گیاهی مورد توجه قرار گرفته است که می‌توان به مهمترین خواص ضد سرطانی، ضد التهابی، ضد باکتریایی، آنتی‌اکسیدانی و ضد ویروسی آن نیز اشاره کرد (Weber et al., 2003). برگ سبز چای همه آنزیم‌ها و واسطه‌های متابولیکی که معمولاً از طریق رشد و فتوسنتز در گیاه تجمع می‌یابند را در بر دارد. برجسته‌ترین این مواد پلی فنول‌ها و ترکیبات کاتشین، از گروه فلاونوئیدها، به همراه مشتقات آن، اپی کاتشین، اپی کاتشین گالات، اپی گالوکاتشین و اپی گالوکاتشین گالات هستند (Riemersma et al., 2001; Vinson and Teufel, 2004; Koo and Cho, 2004). اثرات مثبت ترکیبات مختلف استخراج شده از چای سبز بر عملکرد رشد، پاسخ‌های سیستم ایمنی، مقاومت در برابر عوامل استرس‌زا و محافظت در برابر عوامل بیماری‌زا و همچنین فاکتورهای بیوشیمیایی خون انواع ماهی بررسی شده‌اند

(Abdel-Tawwab et al., 2010; Cho et al., 2007; Ebrahimi et al., 2015; Harikrishnan et al., 2011; Hwang et al., 2013; Nootash et al., 2013; Sheikhzadeh et al., 2011; Thawonsuwan et al., 2010).

اما تا به حال گزارشی مبنی بر بررسی اثرات کاتشین استخراج شده از چای سبز بر عملکرد رشدی، فاکتورهای بیوشیمیایی در سرم و ایمنی در موکوس بافت پوست ماهی کاراس معمولی (*Carassius carassius*) مشاهده نشده است.

ماهی کاراس معمولی جزء خانواده کپور ماهیان و یکی از شش گونه اصلی پرورشی ماهیان آب شیرین در سیستم توأم ماهیان گرمابی در برخی از کشورها مانند چین است. مقاومت و سازگاری بالای ماهی کاراس معمولی در شرایط استرس‌زا، پر زاد و ولد بودن و داشتن گوشت لذیذ و مغذی علیرغم دارا بودن استخوان‌های فراوان از مزایای این ماهی است (Chiu et al., 2013) که مورد توجه برخی از پرورش دهندگان در کشور به خصوص در شهرهای جنوبی مانند خوزستان (به علت تحمل درجه حرارت بالای توسط ماهی کاراس معمولی) قرار گرفته است.

با توجه به پتانسیل پرورش ماهی کاراس در ایران و از طرف دیگر اهمیت ترکیبات مختلف پلی فنولی مانند کاتشین استخراج شده از چای سبز در پرورش ماهی تحقیق حاضر با هدف بهبود عملکرد رشد، برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم و پاسخ‌های ایمونولوژیک موکوس بافت پوست ماهی کاراس معمولی با استفاده از کاتشین استخراج شده از چای سبز به صورت خوراکی انجام گردید.

## ۲. مواد و روش کار

### ۱.۲. طراحی آزمایش

این مطالعه در پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، کرج انجام شد. در این مطالعه ۱۰۸ قطعه ماهی سالم کاراس معمولی با میانگین وزنی  $0.36 \pm 0.03$  گرم از مجتمع تکثیر و پرورش ماهیان زینتی در گرگان خریداری شد. ماهی‌ها پس از

### ۳.۲. بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون

در پایان دوره آزمایش، از هر آکواریوم ۳ قطعه ماهی به صورت تصادفی انتخاب شد و با استفاده از عصاره گل میخک (۵۰ میکرولیتر در لیتر) بی‌هوش گردیدند. به منظور جلوگیری از ورود آب و موکوس به نمونه خون، ماهیان خشک شدند. خون‌گیری با سرنگ از ساقه دمی ماهی‌ها انجام و خون گرفته شده وارد میکروتیوپ‌های فاقد هپارین (به منظور جداسازی سرم) شدند. میکروتیوپ‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق و به مدت ۱ شب نیز در دمای یخچالی نگهداری شدند و سپس به مدت ۵ دقیقه و با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ شدند. نمونه‌های سرم‌ها در میکروتیوپ‌های جداگانه تا قبل از انجام آزمون‌های بیوشیمیایی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

سطح تری‌گلیسیرید، گلوکز، کلسترول و مقدار پروتئین سرم ماهی با استفاده از محلول‌ها و استانداردهای مربوطه و توسط کیت‌های تجاری و تشخیصی شرکت زیست شیمی (تهران، ایران) و دستگاه تیفسنج نوری در طول موج ۴۰۵ نانومتر و اختلاف جذب نوری در مدت ۳ دقیقه مورد سنجش قرار گرفتند.

### ۴.۲. بررسی فاکتورهای ایمنی موجود در

#### موکوس بافت پوست ماهی‌ها

به منظور سنجش برخی از پارامترهای ایمنی موکوسی بافت پوست از جمله پروتئین کل، فسفاتاز قلیایی، پروتئاز و لیزوزیم، موکس براساس روش ارائه شده توسط Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۲b) جمع‌آوری شد. بعد از اتمام دوره غذادهی، به طور کاملاً تصادفی از هر تکرار شش قطعه ماهی نمونه برداری شده و سپس نمونه‌های گرفته شده در عصاره گل میخک (۵۰ میکرولیتر در لیتر) بی‌هوش گردید و سپس موکوس جلدی ماهی‌ها به آرامی با استفاده از کاردک پلاستیکی نرم جمع‌آوری شد. نمونه‌های موکوس هر ۶ ماهی در هرتیمار به عنوان یک نمونه در نظر گرفته شد. در حین

۱۵ روز سازگاری اولیه به طور کاملاً تصادفی در ۹ آکواریوم شیشه‌ای (هر آکواریوم شامل ۱۲ قطعه ماهی) با ابعاد ۹۰×۳۵×۴۰ سانتی‌متر و حجم ۱۰۸ لیتر ذخیره‌سازی شدند. به طور میانگین در کل دوره درجه حرارت آب ۲۸-۲۶ درجه سانتی‌گراد، سختی آب ppm ۳۶۰-۳۲۰، pH برابر ۸/۸-۸/۳ و اکسیژن ppm ۶/۹-۷/۵ بود. در طی دوره آزمایش فتوپریود به صورت ۱۲ ساعت روشنایی: ۱۲ ساعت تاریکی بود. تیمارهای مورد استفاده در تحقیق حاضر شامل: تیمار شاهد که تنها با غذای تجاری (شرکت بیومار فرانسه با میزان رطوبت ۱۱٪، پروتئین خام ۳۶٪، چربی کل ۱۴٪، خاکستر ۱۰٪، فیبر ۴٪) و ۲ تیمار با سطوح ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به ازاء کیلوگرم خوراک ماهی از کاتشین استخراج شده از برگ چای سبز با شماره محصول C0567 (شرکت سیگما، آمریکا) مورد تغذیه قرار گرفتند که با ۳ تکرار برای هر تیمار اثر کاتشین در طی یک دوره ۴۵ روزه بررسی شد (Ahmadifar et al., 2019).

### ۲.۲. زیست‌سنجی و بررسی پارامترهای رشد

به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های رشد در ابتدا و انتهای آزمایش وزن تمام ماهیان (با دقت ۰/۰۱ گرم) و طول (با دقت ۱ میلی‌لیتر) ثبت گردید. بدین منظور همه ماهی‌های موجود در هر آکواریوم به صورت مجزا با استفاده از عصاره گل میخک (۵۰ میکرولیتر در لیتر) بی‌هوش شدند (Keene and Noakes, 1998). با استفاده از داده‌های حاصل از زیست‌سنجی، برخی شاخص‌های رشد مانند وزن نهایی، طول نهایی، نرخ رشد ویژه و ضریب چاقی ماهی‌ها تعیین شد (Turchini et al., 2003).

= نرخ رشد ویژه

$$\times 100 = \frac{\text{لگاریتم طبیعی وزن نهایی} - \text{لگاریتم طبیعی وزن اولیه}}{\text{طول دوره پرورش}}$$

$$\times 100 = \frac{\text{میانگین وزن نهایی}}{\text{میانگین طول نهایی}} = \text{ضریب چاقی}$$

گردید، به عنوان ۱ واحد فعالیت آلکالین فسفاتاز منظور گردید. برای پارا نیترو فنل ضریب جذب<sup>۱</sup> برابر  $1/78 \times 10^4$  مول در سانتی متر در نظر گرفته شد.

فعالیت آنزیمی پروتئاز در موکوس بافت پوست ماهی براساس هیدرولیز آزوکازئین به عنوان سوبسترا اندازه گیری شد. در این روش حجم برابری از نمونه موکوس به همراه بافر آمونیوم بی کربنات ۱۰۰ میلی مولار که این بافر شامل ۰.۷٪ (وزنی/حجمی) کازئین در آب با pH برابر ۸/۷ بود به مدت ۱۹ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد. واکنش آنزیمی با اضافه کردن ۰/۶ میلی لیتر از ۴/۶٪ (وزنی/حجمی) تری کلر استیک اسید متوقف شد. سپس در دمای ۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. برای سنجش آنزیم قسمت رویی جداسازی شد و به همراه ۰/۵ مولار سود میزان جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت شد (Palaksha et al., 2008).

## ۵.۲. تجزیه و تحلیل داده ها

برای آنالیز آماری نتایج تحقیق از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ استفاده گردید. در ابتدا داده ها با آزمون Kolmogorov-Smirnov نرمال و همگرایی واریانس داده ها نیز با آزمون Levene انجام گردید. سپس برای مقایسه میانگین ها در بین تیمارها و نیز معنی دار بودن تفاوت بین میانگین ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون تکمیلی دانکن در سطح معنی دار ۰/۰۵ استفاده شد. تمام نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد گزارش گردید.

## ۳. نتایج

برخی از شاخص های رشد در جدول ۱ نشان داده شده است. در این مطالعه، شاخص های رشدی مورد بررسی در هر دو تیمار نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی داری نداشتند ( $P > 0/05$ ). نتایج به دست آمده از

نمونه گیری برای جلوگیری از آلوده شدن نمونه ها با خون یا ترشحات سلول های اپی تلیال، دقت شد تا به پوست آسیبی نرسد. نمونه های موکوس جمع آوری شده با ۴ برابر حجم از بافر تریس (pH برابر ۵، ۸ میلی مولار تریس اسید کلریدیک، ۱۵۰ میلی مولار سدیم کلرید) هموزن شده، با دور ۴۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شده و مایع رویی بعد از جداسازی لیوفیلیزه گردید. پودر لیوفیلیزه در بافر تریس حل شده و موکوس حل نشده با سانتریفیوژ جدا شد. در ادامه، مایع رویی با استفاده از جریان ملایم گاز ازت تغلیظ شده و پس از عبور از فیلتر میلی پور به عنوان عصاره موکوسی تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد فریز گردید. محاسبه فعالیت لیزوزیم عصاره موکوس براساس روش پیشنهاد شده توسط Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۲a) انجام شد. در این روش لیزوزیم به روش کدورت سنجی و با دستگاه طیفسنج نوری انجام گردید. بدین منظور، پس از تهیه نمودن ۰/۷۵ میلی گرم باکتری میکروکوکوس لیوزودیکتیکوس (سیگما) در میلی لیتر بافر سیترات فسفات ۰/۱ مولار با pH برابر ۸/۵، ۲۵ میکرو لیتر عصاره موکوس با ۱۷۵ میکرو لیتر بافر سیترات فسفات در میکرو پلیت های الیزا مخلوط گردید. جذب نوری در ۴۵۰ نانومتر به مدت ۱۰ دقیقه به طور پیوسته اندازه گیری شد. مقداری از موکوس که سبب ۰/۰۰۱ کاهش میزان جذب در مدت زمان یک دقیقه گردید به عنوان یک واحد در میلی گرم لیزوزیم در نظر گرفته شد.

بررسی فسفاتاز کلیایی موکوس پوست ماهی با روش ارائه شده توسط Palashka و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد. نمونه های موکوس با میزان هم حجم از پارا نیترو فنل فسفات به میزان ۴ میلی مولار، تهیه شده در آمونیوم بی کربنات به میزان ۱۰۰ میلی مولار و حاوی ۱ میلی مولار کلرید منیزیم با pH برابر ۷/۸ در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد. تغییرات در میزان جذب نوری در ۴۰۵ نانومتر به مدت ۲ ساعت به صورت پیوسته اندازه گیری شد. مقداری از آنزیم که سبب آزاد نمودن میلی مول از ترکیب پارانیتروفنل در مدت زمان یک دقیقه

<sup>۱</sup> Extinction coefficient

لیزوزیم در دو سطح ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم کاتشین افزایش معنی داری در مقایسه با جیره شاهد نشان دادند ( $P < 0/05$ ) (جدول شماره ۳). آنزیم پروتئاز در سطح ۵۰۰ میلی گرم کاتشین در موکوس بافت پوست در ماهی های تغذیه شده با کاتشین افزایش معنی داری نسبت به ماهیان در گروه شاهد داشت ( $P < 0/05$ ) (جدول شماره ۳). همچنین از نظر آماری، تفاوت ما بین میزان پروتئین موکوس در هر دو تیمار نسبت به گروه شاهد معنی دار نبود ( $P > 0/05$ ) (جدول شماره ۳).

میزان گلوکز، کلسترول و تری گلیسیرید در سرم خون ماهی کاراس معمولی تغذیه شده با جیره های حاوی دو سطح ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم کاتشین به ازای یک کیلوگرم خوراک ماهی نشان دهنده کاهش معنی دار نسبت به گروه شاهد بود ( $P < 0/05$ ). اما در میزان پروتئین سرم در مقایسه با گروه شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد (جدول شماره ۲). همچنین در موکوس بافت پوست ماهی کاراس معمولی تغذیه شده با جیره های حاوی کاتشین، فعالیت آنزیم های فسفاتاز قلیایی و

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص های رشد ماهی های کاراس معمولی تحت تغذیه با ۲ سطح کاتشین موجود در چای سبز

فاکتورهای رشد				گروه های آزمایش
وزن نهایی (گرم)	طول نهایی (سانتی متر)	نرخ رشد ویژه	ضریب چاقی	
۱۵/۴۸ ± ۱/۴۸	۶/۶۹ ± ۰/۳۶	۰/۳۲۵ ± ۰/۰۲۰	۵/۱۷ ± ۰/۳۸	شاهد
۱۵/۳۵ ± ۱/۷۱	۶/۴۳ ± ۰/۲۰	۰/۳۱۴ ± ۰/۰۸۲	۵/۷۹ ± ۰/۲۹	۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم جیره
۱۵/۳۸ ± ۱/۰۹	۶/۵۱ ± ۱/۰۹	۰/۳۱۷ ± ۰/۰۶	۵/۵۹ ± ۰/۴۵	۵۰۰ میلی گرم/کیلوگرم جیره

مقادیر به صورت (میانگین ± انحراف معیار) ارائه شده است.

جدول ۲- مقایسه میانگین برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم ماهی کاراس معمولی تحت تغذیه با ۲ سطح کاتشین موجود در چای سبز

فاکتورهای بیوشیمیایی سرم				گروه های آزمایش
پروتئین (گرم/دسی لیتر)	گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر)	کلسترول (میلی گرم/دسی لیتر)	تری گلیسیرید (میلی گرم/دسی لیتر)	
۳/۵۰ ± ۰/۳۳	۱۰۳/۸۹ ± ۶/۶۰	۱۱۲/۰۶ ± ۴/۷۰	۳۷۳/۷۲ ± ۱۸/۵۹	شاهد
۳/۴۰ ± ۰/۹۳	۶۲/۱۳ ± ۳/۳۴	۵۶/۸۳ ± ۴/۴۵	۲۱۸/۶۲ ± ۱۹/۴۷	۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم جیره
۳/۶۷ ± ۱/۰۱	۵۲/۲۴ ± ۲/۷۷	۵۷/۵۵ ± ۱/۸۲	۱۸۳/۶۴ ± ۱۰/۵۳	۵۰۰ میلی گرم/کیلوگرم جیره

مقادیر به صورت (میانگین ± انحراف معیار) ارائه شده است.

\* اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد ( $P < 0/05$ ).

جدول ۳- مقایسه میانگین فعالیت برخی آنزیم ها و فاکتورهای ایمنی موکوسی بافت پوست ماهی کاراس معمولی تحت تغذیه با ۲ سطح کاتشین موجود در چای سبز

فعالیت آنزیمی و فاکتورهای بیوشیمیایی موکوس بافت پوست				گروه های آزمایش
پروتئین (گرم/دسی لیتر)	لیزوزیم (واحد/میلی گرم)	فسفاتاز قلیایی (واحد/میلی گرم)	پروتئاز (واحد/میلی گرم)	
۲/۰۱ ± ۰/۵۹	۲۸/۰۳ ± ۱/۴۰	۲/۲۱ ± ۰/۶۰	۵/۰۸ ± ۱/۱۵	شاهد
۱/۶۸ ± ۰/۱۱	۶۳/۹۷ ± ۳/۹۹	۶/۱۷ ± ۰/۶۳	۴/۳۲ ± ۱/۰۸	۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم جیره
۱/۵۵ ± ۰/۵۳	۱۰۳/۳۵ ± ۲/۷۲	۷/۴۴ ± ۰/۷۹	۱۰/۶۳ ± ۰/۸۹	۵۰۰ میلی گرم/کیلوگرم جیره

مقادیر به صورت (میانگین ± انحراف معیار) ارائه شده است.

\* اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد ( $P < 0/05$ ).



#### ۴. بحث و نتیجه گیری

استفاده از مکمل‌های غذایی علاوه بر افزایش رشد و تحریک سیستم ایمنی به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها نیز مطرح شده‌اند (Ringø *et al.*, 2010). محرک‌های ایمنی با منشاء گیاهی به دلیل عوارض جانبی کمتر بر موجود زنده و محیط زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان بودن، پایدار و در دسترس بودن بسیار مورد توجه بوده‌اند (Raa, 1996). در این مطالعه اثر کاتشین استخراج شده از چای سبز را بر برخی شاخص‌های رشد، خونی و موکوسی در ماهی کاراس معمولی بررسی شد. به طور کلی، برگ‌های سبز چای حاوی ۳۶ درصد پلی فنول می‌باشند که در این میان کاتشین‌ها بیشترین سهم را دارا هستند (Uzunalic *et al.*, 2005). همانطور که در بخش نتایج نشان داده شده است تغییرات شاخص‌های رشدی در هر دو تیمار ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم کاتشین بر کیلوگرم خوراک ماهی کاراس معمولی در این تحقیق اختلاف معنی‌داری را در مقادیر وزن نهایی، طول نهایی، نرخ رشد ویژه و ضریب چاقی نداشتند. در راستای نتایج مطالعه حاضر، استفاده از ۱۰۰ میلی گرم عصاره چای سبز در هر کیلوگرم خوراک بر شاخص‌های رشدی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) بی‌اثر بود (Nootash *et al.*, 2013). با این حال، افزایش و کاهش سطح فاکتورهای رشد در ماهی‌های مختلف پس از مصرف چای سبز در بعضی مطالعات گزارش شده است که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی ندارند. استفاده از غلظت ۰/۲۵ و ۲ گرم عصاره چای سبز در هر کیلوگرم خوراک ماهی تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) منجر به بهبود عملکرد رشد گردید (Abdel-Twwab *et al.*, 2010). اما در سنگ ماهی (*Sebastesschlegel*) و کفشک ماهی زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) پس از تغذیه با عصاره چای سبز کاهش رشد گزارش شد (Hwang *et al.*, 2013; Cho *et al.*, 2007). علت این موضوع را می‌توان به گونه و سن ماهی، غلظت و نوع عصاره چای سبز، نحوه به کارگیری و طول دوره تغذیه نسبت داد (Hwang *et al.*, 2013).

نتایج در مطالعه حاضر نشان دادند که ماهیان تغذیه شده در دو سطح ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم کاتشین در هر کیلوگرم خوراک کاهش معنی‌داری در میزان گلوکز، تری گلیسرید و کلسترول را نشان دادند. گلوکز از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون است که می‌تواند به عنوان یکی از شاخص‌های مهم در تعیین وضعیت فیزیولوژیک ماهی به کار رود (Lucas, 1996). Mehdizade و همکاران (۲۰۱۰) کاهش معنی‌دار گلوکز را در موش‌های دیابتی پس از مصرف عصاره چای سبز گزارش نمودند. Haidari و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که مصرف عصاره چای سبز به میزان ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم خوراک نیز باعث کاهش معنی‌داری در سطح گلوکز و کلسترول سرمی در موش‌های دیابتی می‌شود؛ اما در میزان تری گلیسرید تغییر معنی‌داری مشاهده نکردند. به طور کلی، در مطالعات مختلف، مکانیسم‌های متفاوتی در مورد چگونگی اثر عصاره چای سبز بر کنترل قند خون ذکر شده است. تغییر در سطح گلوکز خون ماهی نشان دهنده تأثیر ترکیبات موجود در کاتشین بر مکانیسم‌های شاهد کننده جذب، ذخیره و متابولیسم گلوکز خون است. براساس گزارشات موجود، چای سبز می‌تواند از طریق مهار جذب گلوکز در روده به طور غیرمستقیم و یا به طور مستقیم با اثر بر متابولیسم گلوکز در کبد و ممانعت از انجام گلوکونئوژنز کبدی منجر به کاهش گلوکز در خون شود (Thielecka and Boschmann, 2009; Wu *et al.*, 2005). یافته‌های کمی پیرامون اثر کاتشین بر میزان کلسترول و تری گلیسرید سرم خون در ماهی‌های مختلف موجود است. اما مطالعات *In vitro* متعدد در سایر موجودات در رابطه با بررسی اثرات چای سبز و ترکیبات موجود در آن نشان دهنده توانایی این مواد در ایجاد اختلال در سنتز و تعدیل میزان کلسترول خون هستند (Derakhshande and Aman Allahim, 2008; Thielecka and Boschmann, 2009; Kuhn *et al.*, 2004). کاتشین‌های موجود در چای سبز، دارای خاصیت کاهندگی سطح کلسترول و به طور کلی کاهش سطح لیپید می‌باشند

تأثیر محرک‌های ایمنی بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی موجود در موکوس ماهیان وجود دارد. Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۲a) افزایش معنی‌داری را در فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی موکوس در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت تیمار محرک ایمنی ارگوسان و Roosta و همکاران (۲۰۱۳) افزایش فعالیت فسفاتاز قلیایی را در موکوس ماهی تایگر بارب (*Puntius tetrazona*) و Hoseinifar و همکاران (۲۰۱۵) در ماهی دم شمشیری سیاه (*Xiphophorus helleri*) پس از تغذیه با پروبیوتیک *Lactobacillus acidophilus* گزارش نمودند. همچنین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در موکوس ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus kutum*) با تغذیه ۸ هفته‌ای زنجبیل افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد (Zahiri et al., 2017). در این مطالعه با افزایش سطح کاتشین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در موکوس بافت پوست افزایش یافت که با مطالعه Ahmadifar و همکاران (۲۰۱۹) تأثیر مثبت ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با کاتشین موجود در برگ خرما همسو بود.

پروتئازها یکی دیگر از عوامل موجود در موکوس ماهی‌ها هستند. ترشح پروتئازها در موکوس پوست مستقیماً بر پاتوژن‌ها عمل کرده و باکتری‌ها را از طریق شکستن پروتئین‌ها از بین می‌برند یا ممکن است به طور غیرمستقیم با تغییر غلظت موکوس علیه پاتوژن‌ها عمل نمایند (Esteban, 2012). Sheikhzadeh و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند تغذیه ماهی با جیره حاوی چای سبز به طور معنی‌داری سبب افزایش فعالیت پروتئازی موکوس بافت پوست ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شد. در مطالعه دیگر افزودن عصاره خرما به جیره غذایی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت پروتئازی موکوس در ماهی کپور شد (Hoseinifar et al., 2016). در این تحقیق نیز میزان فعالیت پروتئاز موکوسی بافت پوست تحت تأثیر ۵۰۰ میلی‌گرم کاتشین موجود در هر کیلوگرم خوراک ماهی کاراس معمولی نسبت به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم کاتشین و گروه شاهد در دوره ۴۵ روزه افزایش

(Muramatsu et al., 1986; Fukuyo et al., 1986) جذب روده‌ای کلسترول و سایر ترکیبات لیپیدی را کاهش می‌دهند که می‌تواند علل احتمالی اثر چای سبز بر لیپیدها باشد (Muramatsu et al., 1986; Ikeda et al., 1992). همچنین اثرات کاهش‌دهنده سطح کلسترول چای سبز توسط Singh و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش شد. از سوی دیگر Roach و همکاران (۱۹۹۳) و پیرو گزارش آنها Derakhshande and Aman Allahim (۲۰۰۸) مهار سنتز ترکیبات استرولی در کبد توسط عصاره چای سبز را علت کاهش کلسترول و ترکیبات لیپیدی در خون مطرح کردند. همچنین مطابق با نتایج به دست آمده در این بررسی، Immanuel و همکاران (۲۰۰۹) کاهش معنی‌دار میزان تری‌گلیسرید در سرم خون ماهی تیلاپیا پس از استفاده از عصاره گیاهی را گزارش نمودند.

لیزوزیم آنزیمی ضد باکتریایی و یک شاخص با اهمیت ایمنی غیراختصاصی در ماهی است (Ross et al., 2000; Subramanian et al., 2007). نتایج مطالعه حاضر حاکی از افزایش معنی‌داری فعالیت آنزیم لیزوزیم در موکوس پوست ماهی کاراس معمولی تغذیه شده با جیره حاوی دو سطح ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم خوراک بود. نتایج این تحقیق با نتایج بدست آمده از مطالعه Abdel-tawwab و همکاران (۲۰۱۰) در ماهی تیلاپیا نیل و Kakolaki و همکاران (۲۰۱۷) در ماهی کفال خاکستری هم‌خوانی دارد. سایر مطالعات انجام شده توسط محققین نشان داد که به دنبال استفاده از عصاره چای سبز در خوراک ماهی میزان فعالیت لیزوزیم افزایش یافته که این افزایش بسته به گونه ماهی، غلظت و نوع عصاره مورد استفاده می‌تواند متفاوت باشد (Yin et al., 2009).

آنزیم فسفاتاز قلیایی یک آنزیم لیزوزیمی بوده که بیشترین دامنه فعالیت آن در pH قلیایی است و نقش حفاظتی را در برابر پاتوژن‌ها را انجام می‌دهد (Ross et al., 2000; Subramanian et al., 2007). فسفاتاز قلیایی در اپی‌تلیوم مجاری صفراوی، سلول‌های کبدی، کلیه‌ها و مخاط روده و پوست یافت می‌شود (Murray et al., 2003). اطلاعات محدودی در رابطه با



تری گلیسیرید سرمی و افزایش فعالیت آنزیم لیزوزیم، آلکالین فسفاتاز، پروتئاز، موکوسی بافت پوست در ماهی کاراس معمولی گردید و مناسبترین دوز ۵۰۰ میلی گرم کاتشین بر کیلوگرم خوراک بود. برای تکمیل مطالعه و اطمینان از عدم تأثیر پاتولوژیک کاتشین موجود در چای سبز بر بافت‌های بدن به خصوص دستگاه گوارش مطالعات بافت‌شناسی توصیه می‌گردد.

معنی‌داری داشت. در مجموع نتایج ضد و نقیض تأثیر کاتشین استخراج شده از چای سبز در برخی مطالعات را می‌توان به فعالیت کاتشین‌ها نسبت داد که به کیفیت چای سبز (موقعیت جغرافیایی کشت، آب و هوا، شرایط برداشت و ذخیره‌سازی) و شرایط فرایند عمل‌آوری آن بستگی دارد (Shisuoka *et al.*, 1986).  
نتایج مطالعه اخیر نشان داد که کاتشین استخراج شده از چای سبز موجب کاهش گلوکز، کلسترول و

## References

- Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., Seden, M.E.A., 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.
- Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., Seden, M.E.A., Sakr, 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. *The Journal of the World Aquaculture Society* 41, 203-213.
- Ahmadifar, E., Shahriari Moghadam, M., Sheikhzadeh, N., 2019. The effect of persimmon leaf extract (*Diospyros kaki*) as feed additive on some blood parameters and non-specific immune response in Common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of aquaculture science* 7(1), 27-36.
- Chiu, A., Li, L., Guo, Sh., Bai, J., Fedor, Ch., Naylor, R.L., 2013. Feed and fish meal use in the production of carp and tilapia in China. *Aquaculture*, 414-415, 127-34.
- Cho, S.H., Lee, S.M., Park, B.H., Ji, S.C., Lee, J., Bae, J., 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*. *Fish Physiology and Biochemistry* 49, 33-35.
- Derakhshande, H., Aman Allahim F., 2008. Evaluation of green tea consumption on level of blood cholesterol on rat. *Journal of Korasan University Medical Science* 1(1), 33-40.
- Ebrahimi, E., Beiraghdar, O., 2002. Nutrient requirements and feeding of finish for aquaculture, Iranian Students Booking Agency- Isfahan, Pp., 304.
- Ebrahimi, V., Salati, A.P., Azarm, H.M., Hasanpour, S., 2015. Effects of dietary green tea (*Camellia sinensis L*) on acute stress responses in sturgeon hybrid (*Huso huso* ♂ × *Acipenser ruthenus* ♀). *Aquaculture Research*, 48(2), 618-623.
- Esteban, M.A., 2012. An overview of the immunological defenses in fish skin. *International Scholarly Research Network Immunology* 2012: 1-29.
- Fukuyo, M., Hara, Y., Muramatsu, K., 1986. Effect of tea leaf catechin, (-)-epigallocatechin gallate, on plasma cholesterol level in rats. *Japan Society of Nutrition and Food Science* 39, 495 - 500.
- Haidari, F., Shahi, M.M., Zarei, M., Rafiei, H., Omidian, K., 2012. Effect of green tea extract on body weight, serum glucose and lipid profile in streptozotocin induced diabetic rats. A dose response study. *Saudi Medical Journal* 33 (2), 128 - 33.
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., 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.
- Hoseinifar, S.H., Khalili, M., Rufchaei, R., Raeisi, M., 2016. Investigating the effects of date palm extract on growth performance and mucus immune parameters in Common Carp (*Cyprinus carpio Linnaeus, 1758*) fingerlings. *Journal of Applied Ichthyological Research* 3 (4), 89-100

- Hoseinifar, S.H., Roosta, Z., Hajimoradloo, A., Vakili, F., 2015a. The effects of *Lactobacillus acidophilus* as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black sword tail (*Xiphophorus helleri*). *Fish & Shellfish Immunology* 42, 533–538.
- Hwang, J.H., Lee, S.W., Rha, S.J., Yoon, H.S., Park, E.S., Han, K.H., Kim, S.J., 2013. Dietary green tea extract improves growth performance, body composition, and stress recovery in the juvenile black rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture International* 21, 525- 538.
- Ikeda, I., Imasato, Y., Sasaki, E., 1992. Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. *Biochimica et Biophysica Acta* 1127: 141 - 6.
- Immanuel, G., Uma, R.P., Iyapparaj, P., Citarasu, T., Punitha, S.M, Babu, M., Palavesam, A., 2009. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Fish Biology* 74, 1462-1475.
- Kakolaki, Sh., Jedgal, S., Salehi, H., Zorriehzahra, S.J., Hoseinzadeh Sahafi, H., Afsharnasab, M., Sepahdari, A., Akbari, P., Feridoni, M.S., 2017. A study on methanol herbal plant extract of Garlic (*Camellia sinensis*) on immunity level of Mugil cephalus. *Iranian Fisheries Science Research Institute* 1-37.
- Keene, J.L., Noakes. D.L.G., 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (walbaum). *Aquaculture Research* 29(2), 89–101.
- Koo, M.W.L., Cho, C.H., 2004. Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system, *European Journal of Pharmacology* 500, 177-185.
- Kuhn, D.J., Burns, A.C., Kazi, A., Dou, Q.P., 2004. Direct inhibition of the ubiquitin-proteasome pathway by ester bond-containing green tea polyphenils is associated with increased expression of sterol regulatory element-binding protein and LDL receptor. *Biochimica et Biophysica Acta* 1682, 1-10.
- Lucas, A., 1996. Physical concepts of bioenergetics. In: Lucas, A. (ed). *Bioenergetics of Aquatic Animals*. English edition. Taylor and fransis, France, ISBN- 13: 9780132259057.
- Mehdzade M, Hosseini Tehrani S, Ebrahiminia F., 2010. Effect of green tea (*Camellia sineisis L.*) extract on blood glucose and body weight in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Gorgan University of Medical Science* 2(1), 8 - 12.
- Muramatsu, K., Fukuyo, M., Hara, Y., 1986. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level
- Nootash, S., Sheikhzadeh, N., Baradaran, B., Khani Oushani, A., Maleki Moghadam, M.R., Nofouzi, K., 2013. Green tea (*Camellia sinensis*) administration induces expression of immune relevant genes and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology* 35, 1916-1923.
- Palaksha, K.J., Shin, G.W., Kim, Y.R., Jung, T.S., 2008. Evaluation of non-specific immune components from the skin mucus of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish & Shellfish Immunology* 24, 479-88.
- Raa, J., 1996. The use of immuno-stimulatory substances in fish and shellfish farming. *Reviews in Fisheries Science* 4(3), 229-288.
- Rao, Y.Y., Das, B.K., Iyotymayee, P., Chakrabarti, R., 2006. Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology* 20, 265-273.
- Riemersma, R.A., Rice-Evans, C.A., Tyrrell, R.M., Clifford, M.N., Lean, M.E., 2001. Tea flavonoids and cardiovascular health. *Quarterly Journal of Medicine* 94, 277-282.
- Ringø, E., Olsen, R.E., Gifstad, T.Ø., Dalmo, R.A., Amlund, H., Hemre, G.I., Bakke, A.M., 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition* 16, 117-136.
- Rizvi, S.I., Zaid, M.A., Anis, R., Mishra, N., 2005. Protective role tea catechins against oxidation-induced damage of type 2 diabetic erythrocytes. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 32, 70-75.
- Roach, P.D., Kerry, N.L., Whiting, M.J., Nestel, P.J., 1993. Coordinate changes in the low density lipoprotein receptor activity of liver and mononuclear cells in the rabbit. *Atherosclerosis* 101, 157-164.
- Roosta, Z., Hajimoradloo, A., Hoseinifar, S.H., Vakili, F., 2013. Effect of different levels of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic on the anti-bacterial activity of mucus and non-specific immune of mucus in Tiger Barb (*Puntius tetrazona*). *Journal of Aquatic Ecology* 3 (2): 20-13.

- Sheikhzadeh N, Karimi Pashaki A, Nofouzi K, Heidarieh M, Tayefi-Nasrabadi H. 2012a. Effects of dietary Ergosan on cutaneous mucosal immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.*, 32:407-417.
- Sheikhzadeh, N., Heidarieh, M., Karimi Pashaki, A., Nofouzi, K., Ahrab Farshbafi, M., Akbari., M. 2012b. Hilyses, fermented *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the growth performance and skin non-specific immune parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology* 32, 1083-1087.
- Sheikhzadeh, N., Nofouzi, K., Delazar, A., Khani Oushani, A., 2011. Immunomodulatory effects of green tea (*Camellia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology* 31, 1268-1269.
- Shisuoka, S. 1986. Process for the production of tea catechins, US patent 4.613.672.
- Singh, D., Banerjee, S., Todd, D., 2009. PorterGreen and black tea extracts inhibit HMG-CoA reductase and activate AMP-kinase to decrease cholesterol synthesis in hepatoma cells. *Journal of Nutritional Biochemistry* 20 (10), 816 – 22.
- Thawonsuwan, J., Kiron, V., Satoh, S., Panigrahi, A., Verlhac, V., 2010. Epigallocatechin-3- gallate (EGCG) affects the antioxidant and immune defense of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiology and Biochemistry* 36, 687-697.
- Thielecke, F., Boschmann, M., 2009. The potential role of green tea catechins in the prevention of the metabolic syndrome -A review. *Phytochemistry* 70(1), 11-24.
- Turchini, G.M., Gunasekera, R.M., De Silva, S.S., 2003. Effect of crude oil extracts from trout offal as a replacement for fish oil in the diets of the Australian native fish Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*). *Aquaculture Research* 34, 697-708.
- Uzunalic, A.P., Skerget, M., Knez, Z., Weinreich, V., Otto, F., Gruner, S., 2005. Extraction of Active Ingredients from Green Tea (*Camellia Sinensis*): Extraction Efficiency of Major Catechins and Coffeine. *Food Chemistry* 96(4), 597-605.
- Vinson, J.A., Teufel K., 2004. Green and black teas inhibit atherosclerosis by lipid, antioxidant, and fibrinolytic mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 3661-3665.
- Weber, J.M., Ruzindana-Umunyana, A., Imbeault, L., Sircar, S., 2003. Inhibition of adenovirus infection and adenine by green tea catechins. *Antiviral Research* 58, 167-173.
- Wu, C.H., Lu, F.H., Chang, C.S., Chang, T.C., Wang, R.H., Chang, C.J., 2003. Relationship among habitual tea consumption, percent body fat, and body fat distribution. *Obesity research* 11, 1088 – 95.
- Yin, G., Ardo, L., Thompson, K.D., Adams, A., Jeney, Z., Jeney, G., 2009. Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Ganoderma lucidum*) enhance immune response of carp, *Cyprinus carpio*, and protection against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology* 26, 140-145.
- Zahiri, F., Imanpour, M.R., Hajimoradlou, A., Hoseinifar, S.H., 2017. The effects of ginger powder (*Zingiber officinale*) on the growth, some of mucous immune ameters and hematological parameters in *Caspian kutum* *Rutilus kutum* (Kamensky, 1901) fingerlings. *Journal of Applied Ichthyological Research* 5(1), 69-78.

