

"مقاله پژوهشی"

تأثیر افزودن پودر چای سبز (*Camellia sinensis*) در جیره غذایی بر شاخص های خونی و بیوشیمیایی ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*)مژگان خدادادی*، هدی ناصری منفرد^۱

۱. گروه تکثیر و پرورش آبزیان، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۳۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۳/۱۷

چکیده

در این بررسی تأثیر گیاه چای سبز (*Camellia sinensis*) بر شاخص های ایمنی ماهی آمور (*Ctenopharyngodon idella*) مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۳۶۰ بچه ماهی آمور با میانگین وزن اولیه $18/24 \pm 2/07$ گرم انتخاب و پس از سازگاری با محیط به صورت انتخابی در ۱۲ مخزن و در هر مخزن ۳۰ قطعه بچه ماهی ذخیره شد. گیاه چای سبز در ۳ سطح ۱/۵٪ (تیمار ۲)، ۳٪ (تیمار ۳) و ۵٪ (تیمار ۴) به جیره غذایی اضافه گردید و جیره فاقد چای سبز برای تغذیه گروه شاهد (تیمار ۱) در نظر گرفته شد. هر تیمار در ۳ تکرار انجام گرفت. ماهیان روزانه به میزان ۳ درصد از وزن بدن مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان دوره ۶۰ روزه تعداد ۱۵ ماهی از هر تیمار به صورت تصادفی انتخاب شده و خون گیری از آن ها از محل ورید ساقه دمی انجام گرفت. نتایج نشان داد که میزان گلبول های سفید و هموگلوبین اختلاف معنی داری را در تیمار ۲ با سایر تیمارها داشتند ($P < 0/05$). بیشترین میزان گلبول های سفید و هموگلوبین در تیمار ۱/۵٪ به ترتیب $4/40 \pm 0/57$ و $6/74 \pm 0/74$ گرم بر دسی لیتر بود. بهترین عملکرد در بهبود فاکتورهای بیوشیمیایی خون در تیمار ۰/۵ درصد پودر چای سبز مشاهده گردید ($P < 0/05$). افزایش تعداد گلبول های سفید و سطح هموگلوبین در تیمار ۱/۵ درصد و در غلظت متوسط گلبولی روند افزایشی در تیمارهای چای سبز را نشان داد و همچنین بر فاکتورهای بیوشیمیایی سرم خون از جمله، آلبومین و گلوکز در سطح ۱/۵٪ افزایش معنی داری داشته است ($P < 0/05$). نتایج نشان داد افزودن پودر چای سبز در سطح ۰/۵ درصد نسبت به سایر سطوح مصرفی آن در جیره ماهی آمور می-تواند بر مؤلفه های مورد بررسی اثر گذار باشد.

کلمات کلیدی: چای سبز، ماهی آمور، شاخص های خونی، بیوشیمیایی، جیره غذایی

مقدمه

چای سبز از جمله گیاهان خوراکی توسط انسان می باشد که دارای اثرات ضد میکروبی است و باعث کاهش فلور باکتریایی شده و به افزایش بقاء کمک می نماید. چای سبز حاوی ترکیباتی به نام کاتچین، فیتوکیکان و پلی فنول است که این ترکیبها نوعی آنتی اکسیدان محسوب می شود (Kakoolaki et al., 2016). گلیکوپروتئین موجود در چای سبز باعث بالا رفتن سطح ایمنی بدن جاندار می گردد. ویژگی زیستی چای سبز مانند خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی، ضد سرطانی و ضد جهش زایی را مربوط به آنها می دانند. ویتامین های C و E به عنوان دو آنتی اکسیدان مهم مطرح می باشند که میزان آنتی اکسیدان موجود در چای سبز ۱۰۰ برابر تأثیر گذارتر از ویتامین C و ۲۵ برابر تأثیر گذارتر از ویتامین E می باشد (Mohammadi et al., 2019). آنتی اکسیدانها یکی از شاخص ترین عوامل برای حفظ سلامتی و شادابی سلولهای بدن هستند و بر رشد و بقاء اثر گذار می باشند. چای سبز از تأثیرات مخرب اشعه ماورای بنفش روی DNA جلوگیری می کند. چای سبز باعث تقویت سیستم گوارش شده و ضمن دفع سموم بدن، باعث جذب بهتر مواد و افزایش ورود انرژی به بدن و افزایش رشد و بقاء می شود. چای سبز دارای ۷۰ درصد پلی فنول است که روی کلسترول و میزان لیپوپروتئینهای پلاسما تأثیر گذار بوده که این خود در نهایت باعث تغییر رسوب چربی در سلولها می شود (Abdel-Tawwab et al., 2010; Saeed et al., 2017).

پرورش ماهی و آبی پروری یکی از مهم ترین بخش های شیلاتی است که نقش قابل توجهی در تولید ماهیان دارد (Gephart et al., 2020). هم زمان با

پیشرفت های صنعت آبی پروری در دنیا و ظهور روش های و تکنیک های نوین پرورش ماهیان، مشکلات و چالش های جدیدی نیز به وجود آمده است (Amenyogbe et al., 2020). یکی از مشکلات موجود افزایش و شیوع بیماری ها در بین ماهیان پرورشی است، به طوری که گسترش بیماری ها، توسعه اقتصادی و علمی آبی پروری را در بسیاری از کشورها تحت تأثیر قرار داده است (Dijkstra and Dixon, 2021). در سیستم های مختلف پرورش ماهی گرمابی نیز مشکلات مربوط به تلفات و مرگ و میز ناشی از بیماری ها وجود دارد. بنابراین، تقویت و ارتقاء سیستم ایمنی و فاکتورهای خونی بدن ماهیان به ویژه در گونه های تجاری و خوش طعم و لذیذ و رشد مناسب از مهم ترین مسائل موجود در آبی پروری می باشند (Sampantamit et al., 2020). از سوی دیگر، توسعه پایدار آبی پروری مطرح می باشد که در این خصوص حذف آنتی بیوتیک ها در آبی پروری به علت هزینه بالا، ایجاد عوامل بیماری زای مقاوم به درمان در ماهی، مشکلات مزمن برای مصرف کنندگان ماهی، و مشکلات زیست محیطی باعث شده است توجه به محرک های ایمنی گیاهی به عنوان جایگزینی برای آنتی بیوتیک ها بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (Ismail and Al-Hamdani, 2019).

در پژوهش های متعددی گزارش شده است که برگ چای سبز دارای اثرات ضد میکروبی می باشد و باعث کاهش فلور باکتریایی شده و به افزایش بقاء کمک می نماید (Osawa et al., 1999; Park et al., 1999). همچنین شواهد (Fernandez and Paplos, 2002). بسیار زیادی نشان دهنده فواید ضد اکسیدانی، ضد سرطان، بازدارندگی تولید و تجمع کلاژن، اثر

مستقر گردید. جهت هوادهی مناسب در هر کدام از مخازن پرورشی ۳ عدد سنگ هوا قرار داده شده و مخازن با آب کاملاً تمیز و شفاف تا سطح یکسانی (۲۰۰ لیتری) آبیگری شدند. در این تحقیق ۲۴۰ قطعه بچه ماهیان انگشت قد آمور با وزن تقریبی ۲۰ گرم تهیه شده و معرفی ماهیان به صورت کاملاً تصادفی و به تعداد ۲۰ ماهی در هر مخزن ۳۰۰ لیتری، انجام گرفت. عملیات تیمار بندی به صورت کاملاً تصادفی انجام گرفت که ترتیب تیمارها شامل ۴ تیمار که هر تیمار متشکل از ۳ تکرار بود. پس از تیمار بندی، برای سازگاری بچه ماهیان انگشت قد موجود در مخازن با محیط جدید، به مدت ۳ روز با جیره پایه و پس از آن به مدت ۶۰ روز با جیره اختصاصی تغذیه شدند.

به منظور تهیه خوراک ابتدا جیره آماده مورد استفاده در تغذیه (شرکت آتا واقع در تبریز) بچه ماهی آمور آسیاب شده و با الک با چشمه بسیار ریز عبور داده شد تا پودر صاف و یکدستی درست شود (جهت انسجام بیشتر خوراک نهایی در آب). به منظور آماده سازی جیره مخصوص هر یک از تیمارها، اجزای جیره مربوطه به کمک ترازوی دیجیتالی وزن شدند که پس از وزن کردن اجزای جیره، هر تیمار به صورت جداگانه باهم مخلوط گردید و با کمک همزن برقی و صنعتی به همراه آب خمیر مناسب تهیه گردید (خمیر تهیه شده نباید رطوبت بالایی داشته باشد). سپس به کمک چرخ گوشتی خمیر به صورت رشته درآمده و پس از خشک شدن به صورت جداگانه نگهداری شدند (Lee *et al.*, 2000). برای یکسان بودن سطح انرژی جیره تیمارها با یکدیگر، به تیمار شاهد (تیمار یک) ۵۰ گرم سبوس گندم که دارای سطح انرژی صفر می باشد اضافه شد (از یک بایندر فاقد انرژی استفاده شد) (Cho *et*

ضدالتهاپی و خاصیت الفاکننده تغییرات در پاسخ های ایمنی توسط چای سبز است (Kim *et al.*; Hsu, 2003). پژوهشگران دیگر نیز (Park *et al.*, 2008; *al.*, 2008). پژوهشگران دیگر نیز تأثیر مثبت چای سبز را بر شاخص های خونی، فاکتورهای ایمنی و پروتئین های سرم ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (خدادادی و رنجبر، ۱۳۹۵؛ رنجبر و خدادادی، ۱۳۹۵) و شاخص های کبدی و گنادی ماهی سیچلاید گورخری (*Amatitlania nigrofasciata*) (کریم زاده و همکاران، ۱۳۹۹) گزارش کردند.

با توجه به اینکه هر ماهی الگوی خونی ویژه ای دارد، نیاز است، فاکتورهای خونی هر ماهی به طور جداگانه مورد بررسی قرار گیرد (Stolen *et al.*, 1994)، به دلیل اینکه تا حال فاکتورهای خونی ماهی آمور در برابر تغذیه با پودر چای سبز مورد بررسی قرار نگرفته است، بنابراین این تحقیق باهدف مطالعه تعیین اثرات پودر چای سبز بر شاخص های خونی و ایمنی ماهی آمور صورت پذیرفت.

مواد و روش ها

این تحقیق در مرکز تحقیقات تکثیر و پرورش آبریان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، واقع در شهر اهواز در پاییز ۱۳۹۵ انجام شد. این بررسی ۱۴ روز دوره سازگاری و ۶۰ روز دوره پرورشی انجام شد. ۱۲ عدد مخزن یکسان و مشابه با حجم ۳۰۰ لیتری به سالن سرپوشیده منتقل شدند. لازم به ذکر است که مخازن از روز قبل شروع پرورش کاملاً آلودگی زدایی و در معرض نور آفتاب قرار گرفته تا از انتقال بیماری و آلودگی دوره های قبل پرورشی جلوگیری شود و سپس تیمار بندی و تکرارها به صورت کاملاً تصادفی در سالن

شد. جیره‌های که آماده شده، از نظر سطح انرژی کاملاً یکسان بودند (Lee et al., 2000). از هر کدام از تیمارها به صورت جداگانه برای بررسی میزان خاکستر، رطوبت، پروتئین، چربی و کربوهیدرات نمونه‌هایی به آزمایشگاه کیمیا پژوه البرز واقع در شهرکرد فرستاده شد که نتایج آن در جدول ۱ برای هر کدام از تیمارها به صورت تفکیکی ارائه شده است.

(al., 2007). سپس برای جیره‌های هر تیمار این گونه عمل شد که تیمار یک: صفر درصد چای سبز (شاهد) ۵۰ گرم بایندر در کیلوگرم، تیمار دو: ۱/۵ درصد (۱۵ گرم بر کیلوگرم) ۳۵ گرم بایندر در کیلوگرم، تیمار سه: ۳ درصد (۳۰ گرم بر کیلوگرم) ۲۰ گرم بایندر در کیلوگرم و تیمار چهار: ۵ درصد (۵۰ گرم بر کیلوگرم) درصد بدون بایندر بود (Cho et al., 2007). جیره بعد از مخلوط شدن با بایندر از چرخ گوشت عبور داده، خشک و در یخچال نگه‌داری

جدول ۱: آنالیز جیره غذایی تیمارهای مورداستفاده در طول دوره ۶۰ روز پرورش

| تیمارها | ترکیبات | جیره | خاکستر | رطوبت | پروتئین | چربی | کربوهیدرات |
|----------|---------|--------|--------|--------|---------|--------|------------|
| | (درصد) | (درصد) | (درصد) | (درصد) | (درصد) | (درصد) | (درصد) |
| ۱ (شاهد) | ۱۱/۳ | ۸/۱۸ | ۵۰/۶ | ۱۵/۱ | ۱۱/۵ | | |
| ۲ | ۱۱/۹ | ۹/۹۲ | ۴۹/۶ | ۱۲/۵ | ۱۲/۸ | | |
| ۳ | ۱۲/۱ | ۹/۱۳ | ۴۹/۵ | ۱۲/۲ | ۱۳/۱ | | |
| ۴ | ۱۲/۱ | ۹/۰۴ | ۴۹/۳ | ۱۲/۲ | ۱۳/۵ | | |

هپارین درون میکروتیوپ ۲ میلی لیتر ریخته شد و در دمای یخچالی نگه‌داری شد. نمونه‌های خونی که برای سنجش پارامترهای بیوشیمیایی بود درون میکروتیوپ (بدون آغشته به هپارین) ریخته شد. پس از انتقال کامل نمونه‌های خون، جهت جداسازی سرم نمونه‌ها را درون سانتریفیوژ با سرعت ۴۲۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. سپس سرم آن‌ها با سمپلر جدا شده و در میکروتیوپ‌های یک بار مصرف ریخته شدند و نمونه‌های خون همراه با نمونه‌های سرم با یخ خشک درون ترموز قرار داده شد تا زمان انجام آزمایشات در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند (Banaee, 2004).

در پایان دوره پرورش، خون‌گیری از ماهیان جهت انجام آزمایش‌های هماتولوژی و بیوشیمیایی صورت گرفت. بدین منظور جهت جلوگیری از بروز استرس، ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری تغذیه ماهیان قطع گردید، از هر تکرار ۵ ماهی به صوت تصادفی انتخاب و برای جلوگیری از ورود موکوس و آب به نمونه خون ماهیان کاملاً خشک گردیده خون‌گیری از ورید ساقه دمی ماهیان با سرنگ ۲/۵ سی‌سی انجام گرفت (Blaxhland and Dasely, 1973). دو سری نمونه خون از ماهیان گرفته شد یکسری جهت انجام آزمایش‌های خون‌شناسی و دیگری جهت سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی، نمونه‌های خونی که برای سنجش فاکتورهای خونی بود با سرنگ آغشته به

قرمز و سفید اختلاف معنی داری در بین تیمارهای مورد بررسی به وجود آمد. به طوری که بالاترین میزان آن‌ها در تیمار شاهد و کمترین آن در تیمارهای حاوی پودر چای سبز مشاهده شد. اگرچه در میزان هموگلوبین، غلظت متوسط گلبولی و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی قرمز مصرف چای سبز سبب ایجاد اختلاف معنی دار در آن گردید و بیشینه آن در تیمار ۰/۵ درصد پودر چای سبز مشاهده شد. به این ترتیب ۰/۵ درصد پودر چای سبز در جیره نسبت به سایر گروه‌ها از سطح مطلوب تری برخوردار بود. در این بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی خون شامل گلوکز، تری گلیسرید، کلسترول، آلبومین و پروتئین تام بررسی شدند (جدول ۳).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷، Excel نسخه ۲۰۰۷ و میانگین داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P=0.05$) تعیین گردید.

نتایج

در این تحقیق فاکتورهای خونی شامل گلبول‌های قرمز (RBC)، گلبول‌های سفید (WBC)، هماتوکریت (HCT)، هموگلوبین (HB)، غلظت متوسط گلبولی (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین گلبولی قرمز (MCHC) بررسی شدند که میانگین و انحراف معیارهای به دست آمده از آنالیز فاکتورهای خونی در جدول ۲ آمده است. در برخی از پارامترها از جمله گلبول‌های

جدول ۲: مقایسه شاخص‌های خونی تیمارهای مختلف چای سبز طی دوره پرورش ماهی آمور

| تیمار ۴ | تیمار ۳ | تیمار ۲ | تیمار ۱ (شاهد) | شاخص‌های خونی |
|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|--|
| ۲/۱۱ ± ۰/۳۷ ^a | ۲/۱۱ ± ۰/۱۷ ^a | ۲/۲۷ ± ۰/۳۷ ^a | ۲/۶۳ ± ۰/۱۱ ^b | گلبول‌های قرمز (RBC) ($\times 10^6$) |
| ۳/۲۴ ± ۰/۴۳ ^a | ۳/۴۹ ± ۰/۵۲ ^a | ۴/۴۰ ± ۰/۵۷ ^b | ۴/۱۸ ± ۰/۳۳ ^b | گلبول‌های سفید (WBC) (تعداد در میکرو لیتر $\times 10^3$) |
| ۲۶/۴۷ ± ۲/۱۶ ^a | ۲۵/۷۳ ± ۳/۶۷ ^a | ۲۶/۸۹ ± ۲/۳۵ ^a | ۲۷/۶۷ ± ۳/۰۳ ^a | هماتوکریت (HCT) (درصد) |
| ۶/۲۱ ± ۰/۳۶ ^{ab} | ۶/۵۵ ± ۱/۵۸ ^b | ۶/۷۴ ± ۰/۷۴ ^b | ۵/۸۹ ± ۰/۳۹ ^a | هموگلوبین (g/dl) (HB) |
| ۱۲۶/۲۲ ± ۲۸/۱۶ ^b | ۱۲۲/۵۴ ± ۲۱/۱۵ ^b | ۱۲۰/۸۶ ± ۲۲/۴۳ ^{ab} | ۱۰۴/۸۴ ± ۱۳/۴۳ ^a | حجم متوسط گلبولی (fl) (MCV) |
| ۲۷/۴۳ ± ۶/۶۴ ^a | ۲۴/۱۰ ± ۵/۴۶ ^a | ۷۰/۲۶ ± ۵/۲۹ ^a | ۲۷/۷۸ ± ۴/۳۲ ^a | متوسط هموگلوبین گلبولی (pg) (MCH) |
| ۲/۱۲ ± ۰/۲۳ ^b | ۱/۹۶ ± ۰/۲۲ ^b | ۲/۲۲ ± ۰/۱۳ ^b | ۲/۶۵ ± ۰/۳۱ ^a | غلظت متوسط هموگلوبین (MCHC) |

ردیف‌های دارای حروف همنام (a, b, c) از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارند ($P < 0.05$).

جدول ۳: شاخص‌های بیوشیمیایی در تیمارهای مختلف چای سبز طی دوره پرورش ماهی آمور

| شاخص‌های بیوشیمیایی | تیمار ۱ (شاهد) | تیمار ۲ | تیمار ۳ | تیمار ۴ |
|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| گلوکز (میلی گرم/دسی لیتر) | ۷۷/۶۰ ± ۴/۱۶ ^{ab} | ۸۰/۰۷ ± ۴/۶۸ ^b | ۷۲/۶۰ ± ۴/۰۴ ^{ab} | ۷۰/۴۰ ± ۲/۷۲ ^a |
| تری گلیسرید (میلی گرم/دسی لیتر) | ۳۱۰/۴۷ ± ۲۰/۰۵ ^a | ۳۰۴/۰۷ ± ۲۲/۷۹ ^a | ۳۰۱/۲۰ ± ۲۳/۹۷ ^a | ۲۸۳/۸۷ ± ۲۵/۴۰ ^a |
| کلسترول (میلی گرم/دسی لیتر) | ۲۶۲/۰۷ ± ۱۴/۱۳ ^b | ۲۴۴/۳۳ ± ۵/۲۰ ^b | ۲۳۳ ± ۹/۱۲ ^{ab} | ۲۲۲/۰۷ ± ۱۰/۹۳ ^{ab} |
| آلبومین (گرم/دسی لیتر) | ۱/۰۴ ± ۰/۰۶ ^b | ۱/۲۱ ± ۰/۰۸ ^c | ۰/۹۷ ± ۰/۰۷ ^b | ۰/۵۶ ± ۰/۰۴ ^a |
| پروتئین تام (گرم/دسی لیتر) | ۳/۴۲ ± ۰/۲۷ ^a | ۳/۵۵ ± ۰/۲۱ ^a | ۳/۵۴ ± ۰/۲۳ ^a | ۳/۱۸ ± ۰/۲۴ ^a |

ردیف‌های دارای حروف همنام (a, b, c) از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند ($P < 0.05$).

بحث

در این بررسی پودر چای سبز در تیمارهای مورد آزمایش سبب کاهش میزان گلبول‌های قرمز گردیده است. چای سبز دارای خواص ضد باکتریایی و آنتی-اکسیدانی و ضد میکروبی و محرک هضم و ضد عفونی کننده است (Banon *et al.*, Hara, 2001) و از طرف دیگر چای سبز شامل ویتامین‌های C و E نیز بوده که این ویتامین‌ها نیز دارای خاصیت آنتی-اکسیدانی مشابه با پلی فنول‌ها بوده (Alagawany *et al.*, 2020)، و با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی موجود در این ترکیبات افزایش معنی‌داری در شاخص‌های هماتولوژیک شامل گلبول‌های قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت مورد انتظار است (Mohammadi *et al.*, 2019). در پژوهش حاضر برخلاف انتظار میزان گلبول قرمز در تیمارهای تغذیه‌شده با پودر چای سبز کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نشان داده است که با نتایج حاصله در بررسی خدادادی و رنجبر (۱۳۹۵) در ماهی کپور معمولی مطابقت دارد. در بررسی Abdel-Tawwab و همکاران (۲۰۱۰)، اثر چای سبز در رژیم غذایی ماهی تیلاپیا در مقابله با عفونت هیدروفیلا

گزارش شده است که سطح بالای گلبول قرمز در تیمارهای تغذیه‌شده با چای سبز در مقابل تیمار شاهد، افزایش عملکرد خونی ماهی را نشان می‌دهد. همچنین افزودن چای سبز به جیره غذایی هیبرید ماهیان خاویاری (*Huso huso* × *ip Acipenser ruthenus*) نشان داده که میزان گلبول‌های قرمز خون تحت تأثیر عصاره چای سبز به‌طور قابل توجهی افزایش یافتند (Hasanpour *et al.*, 2017).

از آنجایی که چای سبز به‌عنوان خوراک مورد بررسی قرار گرفته، بر سطح گلبول‌های سفید تأثیر گذار بوده است، به‌این ترتیب به دلیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ویتامین C و ویتامین‌های گروه B، ویتامین E موجود در چای سبز باعث بالا رفتن میزان گلبول‌های سفید و افزایش سیستم دفاع ایمنی غیر اختصاصی آن می‌شود (Kakoolaki *et al.*, 2016؛ Nie *et al.*, 2007). به‌طوری که ویتامین C جهت عملکرد صحیح نوتروفیل‌ها که جزء گلبول‌های سفید هستند، استفاده می‌شود. همچنین ویتامین‌های گروه B سبب کارکرد صحیح سلول‌های سفید خون و تشکیل آنتی‌بادی‌های خون شده و فعالیت ضد میکروبی و ضد عفونی کنندگی چای سبز

وجود آمدن اختلاف معنی دار می تواند در سطح مقادیر مورد استفاده، گونه، شرایط غذایی و پرورشی و یا تعداد وعده های غذایی در ماهی بوده باشد و همچنین می توان این گونه نتیجه گرفت که مواد محرک سیستم ایمنی، لزوماً نمی توانند اثر معنی داری بر شاخص های هماتولوژیک داشته باشد (تنگستانی و همکاران، ۱۳۹۰). در حالی که در تحقیق اثر چای سبز به عنوان یک مکمل غذایی و تأثیر آن بر شاخص های خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی گزارش شده است که میزان هماتوکریت در تیمار ۱/۵ درصد چای سبز در مقایسه با سایر تیمارها افزایش معنی داری داشته است (خدادادی و رنجبر، ۱۳۹۵) که با نتیجه تحقیق حاضر همخوانی نداشت.

افزودن پودر چای سبز در سطح ۱/۵ درصد در جیره باعث افزایش معنی دار در میزان هموگلوبین شده است. افزایش غلظت هموگلوبین بر قابلیت انتقال گازهای تنفسی در خون و بازده قلب مؤثر باشد. با توجه به اینکه افزودن پودر چای سبز در این بررسی افزایش معنی داری در شاخص های هموگلوبین را نشان داد، توانست سبب برتری وضعیت تنفسی به خصوص در تیمارهای حاوی ۱/۵ درصد پودر چای سبز در مقایسه با سایر تیمارها گردد. چای سبز دارای خاصیت ضد میکروبی است (Mohammadi *et al.*, 2019) که بر اساس بررسی قاسمی پیربلوطی بر روی گیاه مرزه خوزستانی نشان داده شد که خاصیت ضد میکروبی موجود در گیاهان دارویی سبب افزایش معنی داری در هموگلوبین می گردد (قاسمی پیر بلوطی و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین بررسی اثر چای سبز به عنوان یک مکمل غذای و تأثیر آن بر شاخص های خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی نشان داد که میزان

در مقابل عوامل بیماری زا و تأثیر در افزایش پاسخ ایمنی بدن با اثر گذاری بر تعداد گلبول های سفید می تواند مؤثر باشد (Rattanachaikunsopon and Phumkhachorn, 2010; Saeed *et al.*, 2017). بالاتر رفتن از سطح ۱/۵ درصد، در چای سبز نتیجه معکوس در پی داشته و سبب کاهش میزان گلبول های سفید گردید که علت آن نیز می تواند وجود ترکیبات ضد مغذی در چای سبز باشد، زیرا این گیاه همانند سایر گیاهان دارویی دارای یکسری ترکیبات ضد مغذی از جمله کافئین و فیبر و همچنین وجود ترکیبات فنولی آن می باشد که با تحقیق خدادادی و رنجبر (۱۳۹۵)، در ماهی کپور معمولی مطابقت دارد. همچنین Abdel-tawwab و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که چای سبز عملکرد خونی ماهی را افزایش می دهد. از جمله عوامل مؤثر بر تعداد گلبول سفید می توان به استرس، بیماری، عوامل آلاینده، تغذیه، شرایط اکولوژیک، سن و جنس اشاره کرد (احمدی فر و همکاران، ۱۳۹۸).

عدم ایجاد اختلاف معنی دار چای سبز در شاخص های خونی در تیمارهای مورد بررسی با تیمار شاهد ($P > 0/05$) می تواند ناشی از عوامل مختلف از جمله شرایط آزمایش، گونه ماهی، سطوح مختلف آزمایش و نحوه تغذیه ماهی و طول دوره پرورش باشد (مورکی و همکاران، ۱۳۹۱). با نظر به اینکه چای سبز دارای خواص ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی و محرک هضم و ضد عفونی کننده است به این ترتیب انتظار می رفت به علت وجود ترکیبات کاتچین در این گیاه سبب افزایش معنی داری در شاخص های هماتولوژیک از جمله هماتوکریت گردد (Borges, 2004) و علت عدم به

بین تیمارهای مختلف دریافت کننده پودر چای سبز نشان داده است.

در این بررسی در میزان آلومین چای سبز تأثیر مثبتی در تیمار ۲ مشاهده شده است. در بررسی خدادادی و رنجبر (۱۳۹۵) میزان آلومین در تیمارهای مورد آزمایش اختلاف معنی داری نشان نداده است. تفاوت در نتایج به دست آمده در این تحقیق می تواند به کوچک شدن اندازه کبد در تیمارهای چای سبز مرتبط باشد. آلومین در بیماری های حاد و مزمن کبدی و کلیوی کاهش می یابد. البته برای درک بهتر از وضعیت این فاکتور بررسی آن حتماً باید در کنار فاکتورهای دیگر باشد، زیرا ممکن است کاهش آلومین با سایر پروتئین ها در سرم جبران شود (Densmore, 2001). شاخص های ایمنی نظیر پروتئین تام و آلومین نیز در مقایسه با تیمار شاهد در هیبرید ماهیان خاویاری افزایش معنی داری داشتند (Hasanpour et al., 2017).

میزان کلسترول در تیمار ۱ (شاهد) با تیمارهای مورد بررسی اختلاف و کاهش معنی داری را نشان داده که نشان دهنده عدم تأثیر معنی دار چای سبز در بهبود این شاخص در تیمارهای حاوی چای سبز است. میزان کلسترول در تیمارهای مصرف کننده چای سبز با افزایش دوز پودر چای کاهش یافته است. Hwang و همکاران (۲۰۱۳) اثرات عصاره اتانولی چای سبز را بر روی عملکرد رشد، ترکیب بدن و بهبود استرس در راک فیش سیاه (*Sebastes schlegeli*) مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که اضافه کردن عصاره چای سبز باعث کاهش سطح کلسترول کل را نشان داد. میزان تری گلیسرید در تمام تیمارهای مورد بررسی با شاهد اختلاف معنی دار

هموگلوبین در تیمارهای مورد آزمایش در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی داری داشته است (خدادادی و رنجبر، ۱۳۹۵)، در نتیجه بررسی فاکتورهای خونی ماهی آموز تغذیه شده با چای سبز، با توجه به اینکه پودر چای سبز بر تعداد گلبول های قرمز موجود در خون ماهی مؤثر نبوده، ولی بر فاکتور گلبول های سفید توانسته اثر مثبتی را نشان دهد به گونه ای که تعداد گلبول های سفید که نقش بسیار مهمی در سیستم دفاعی ماهی دارد، در تیمارهای که با پودر چای سبز تغذیه شده بودند افزایش یافته که می تواند نشانگر مؤثر بودن پودر چای سبز به عنوان استفاده در خوراک جهت بالا بردن سیستم دفاعی بدن ماهی باشد و می تواند جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیک ها در جیره غذایی ماهیان پرورشی باشد.

میزان پروتئین در تیمار ۴ در این بررسی کمترین مقدار را نسبت به شاهد داشته است. در ساختار پروتئین های سلولی اسیدهای آمینه نقش اصلی را ایفا می کنند و به دلیل ترکیبات اسید آمینه (مانند لیزین و پرولین) موجود در چای سبز سبب ساخته شدن پروتئین های سلولی گردیده است، اما به نظر می رسد میزان بیشتر از ۱/۵ درصد پودر چای سبز روند رو به کاهشی را ایجاد کرده که می تواند به علت برهم خوردن تعادل بین اسیدهای آمینه موجود در جیره و به تبع آن مانع مکانیسم پروتئین سازی سلولی گردد که با نتایج اثر گنجاندن منابع مختلف چای سبز و اثرات آن بر روی رشد، ترکیب لاشه و ترکیب شیمیایی خون بچه ماهی نوجوان کفشک زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) مطابقت دارد (Cho et al., 2006). در مطالعه خدادادی و رنجبر (۱۳۹۵) میزان پروتئین کل سرم خون در تیمار ۱/۵ درصد چای سبز تفاوت معنی داری را

خون را در کپور معمولی افزایش می‌دهد. با افزایش میزان دوز چای سبز در تیمارهای ۳ و ۴ در ماهی آمور کاهش تدریجی و بی‌معنی مشاهده شد، که با افزایش دوز امکان کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد وجود دارد. چای سبز باعث کاهش قند خون نیز می‌شود (Tsuneki *et al.*, 2004). قند خون می‌تواند در اثر مصرف چای سبز سبب افزایش گلوکز پایه و میزان جذب گلوکز را به وسیله تحریک سلول‌های چربی صورت گیرد و این در صورتی است که عدم تأثیر چای سبز بر سطح گلوکز و لیپید گزارش شده است (Ryu *et al.*, 2006)، به این ترتیب کاهش سطح گلوکز سرم موجب بهبود متابولیسم قند در بدن موجودات می‌تواند شود (Sabu *et al.*, 2002).

بر اساس نتایج و داده‌های به دست آمده از این تحقیق می‌توان بیان کرد که افزودن پودر چای سبز به جیره غذایی ماهی آمور بر شاخص‌های خونی وابسته به گلبول قرمز بی‌تأثیر بوده و ایمنی غیراختصاصی را نیز در ماهی آمور تحریک نموده است و افزایش تعداد گلبول‌های سفید و هموگلوبین در تیمار ۱/۵ درصد و در غلظت متوسط گلبولی روند افزایشی در تیمارهای چای سبز را نشان داد و همچنین بر شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون از جمله، آلبومین و گلوکز در سطح ۱/۵ درصد افزایش معنی‌داری داشته است.

سپاسگزاری

از کلیه همکارانی که در انجام این تحقیق نهایت همکاری را داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

نداشت که نشان‌دهنده عدم تأثیر معنی‌دار چای سبز در بهبود این شاخص است. ولی کمترین دوز در بین تیمارهای چای سبز، ۱/۵ درصد بود. با توجه به اینکه چای سبز حاوی ترکیبات مختلفی چون پلی‌فنول‌ها و کاتچین می‌باشد، این مواد دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند (Alagawany *et al.*, 2020). هر چه میزان چای سبز افزایش پیدا کرده، میزان کلسترول موجود در آن روند کاهشی را پیدا کرده است. از آنجایی که گیاهان دارویی و آنتی‌اکسیدان‌ها باعث کاهش جذب چربی و تحریک ترشح کلسترول از طریق صفرا و افزایش دفع کردن از طریق مدفوع می‌شوند سبب این کاهش گردیده است (Filomeni *et al.*, 2003).

گلوکز یکی از شاخص‌های مهم در تعیین وضعیت فیزیولوژیکی ماهی است. هرچه گلوکز کمتر باشد ماهی برای تأمین انرژی خودش به سمت پروتئین می‌رود (Wu *et al.*, 2004). میزان گلوکز در طی دوره پرورشی بین تیمار ۲ (بیشترین میزان) و ۴ (کمترین میزان) اختلاف معنی‌داری را نشان داد. که نشان‌دهنده عدم تأثیر معنی‌دار چای سبز در بهبود این شاخص است. اثرات عصاره اتانولی چای سبز بر عملکرد رشد، ترکیب بدن و بهبود استرس در راک فیش سیاه (*Sebastes schlegeli*) نشان داد که سطوح پلاسمای گلوکز در ماهی تغذیه‌شده با ۳ درصد عصاره چای سبز سبب بهبود سریع می‌شوند (Hwang *et al.*, 2013) که با نتیجه به دست آمده مطابقت داشت. دلیل بی‌تأثیر بودن چای سبز را می‌توان ناشی از استرس ماهی دانست، به طوری که Osawa و همکاران (۱۹۹۹) در بررسی خود به این نتیجه رسیدند که استرس ناشی از دست‌کاری و حمل و نقل ماهیان به شدت گلوکز

منابع

- سیچلاید گورخری (*Amatitlania nigrofasciata*).
 دو فصلنامه علوم آبی‌پروری، ۸(۱)، ۱۳۳-۱۲۳.
۷. مورکی، ن.، روزی، ی.، ذریه زهرا، ج.، صافی، ش.ا.، ۱۳۹۱. بررسی اثر کاربرد پودر دارچین به‌عنوان مکمل رشد در جیره غذایی ماهی گرین‌ترور (*Andinocarari vulatus*) بر شاخص‌های هماتولوژی. اولین کنفرانس ملی راهکارهای دستیابی به توسعه پایدار در بخش‌های کشاورزی، منابع طبیعی و محیط‌زیست، تهران، ایران.
8. Abdel-Tawwab M., Ahmad M.H., Seden M.E.A. and 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. Journal of the World Aquaculture Society, 41, 203-213.
9. Alagawany, M., Abd El-Hack, M.E., Saeed, M., Naveed, M., Arain, M.A., Arif, M., Tiwari, R., Khandia, R., Khurana, S.K., Karthik, K., Yattoo, M.I. 2020. Nutritional applications and beneficial health applications of green tea and l-theanine in some animal species: A review. Journal of animal physiology and animal nutrition, 104(1), 245-256.
10. Amenyogbe, E., Chen, G., Wang, Z., Huang, J., Huang, B., Li, H. 2020. The exploitation of probiotics, prebiotics and synbiotics in aquaculture: present study, limitations and future directions. a review. Aquaculture International, 28, 1-25.
11. Banaee, M.; Sureda, A.; Mirvagefii, A.R., Rafei, G.R., 2004. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Fish Physiol Biochem, 37 (4), 885-876.
12. Banon, S., Diaz, P., Rodriguez, M., Garrido, M.D., Price, A. 2007. Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life
۱. احمدی فر، ا.، شهریاری مقدم، م.، شیخ‌زاده، ن.، ۱۳۹۸. بررسی افزودن عصاره برگ درخت خرمالو (*Diospyros kaki*) در جیره غذایی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و تأثیر بر برخی فراسنجه‌های خونی و ایمنی غیراختصاصی. دو فصلنامه علوم آبی‌پروری، ۷(۱)، ۳۶-۲۷.
۲. تنگستانی، ر.، علیزاده، ا.، زارع، پ.، ۱۳۹۰. اثر اسانس سیر بر شاخص‌های مواتولوژی فیل‌ماهی. مجله تحقیقات دامپزشکی، ۶۶(۳)، ۲۱۶-۲۰۹.
۳. خدادادی، م.، رنجبر، ش.، ۱۳۹۵. تأثیر افزودن پودر چای سبز *Camellia sinensis* به جیره غذایی بر برخی فاکتورهای ایمنی و پروتئین‌های سرم در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله دامپزشکی ایران، ۱۲(۲)، ۵۴-۴۳.
۴. رنجبر، ش.، خدادادی، م.، ۱۳۹۵. تأثیر پودر چای سبز (*Camellia sinensis*) بر برخی شاخص‌های خونی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله اکو‌بیولوژی تالاب، ۸(۱)، ۵۰-۳۹.
۵. قاسمی پیربلوطی، ع.، پیر علی، ا.، پیشکار، غ. ر.، جلالی، س.م.ع.، رئیسی، م.، جعفریان ده‌کردی، م.، حامدی، ز.ب.، ۱۳۹۰. اثر اسانس گیاهان دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه داروهای گیاهی، ۲، ۱۵۵-۱۴۹.
۶. کریم زاده، م.، فلاحتکار، ب.، علاف نویریان.، ۱۳۹۹. اثر عصاره چای سبز (*Camellia sinensis*) بر پارامترهای رشد، شاخص کبدی، گنادی و احشایی

- Reviews in Fisheries Science and Aquaculture, 3, 1-7.
22. Hara, Y., 2001. Green tea health benefits and applications. Marcel Dekker Inc, New York.
 23. Hasanpour, S., Salati, A.P., Falahatkar, B., Azarm, H.M. 2017. Effects of dietary green tea (*Camellia sinensis* L.) supplementation on growth performance, lipid metabolism, and antioxidant status in a sturgeon hybrid of Sterlet (*Huso huso* ♂ × *Acipenser ruthenus* ♀) fed oxidized fish oil. *Fish physiology and biochemistry*, 43(5), 1315-1323.
 24. Hsu, S., Bollag, W.B., Lewis, J., Huang, Q., Singh, B., Sharawy, M. 2003. Green tea polyphenols induce differentiation and proliferation in epidermal keratinocytes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306(1), 29-34.
 25. 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 schlegelii*. *Aquaculture International*, 21, 525-538.
 26. Ismail, R., Al-Hamdani, A., 2019. Effect of probiotic (Poultrystar®) and heat stress on some blood parameters in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Iraqi Veterinary Science*, 33, 221-225.
 27. Kakoolaki S., Akbary P., Zorriehzahra M.J., Salehi H., Sepahdari A., Afsharnasab M., Mehrabi M.R., Jadgal S. 2016. *Camellia sinensis* supplemented diet enhances the innate non-specific responses, haematological parameters and growth performance in *Mugil cephalus* against *Photobacterium damsela*. *Fish and Shellfish Immunology*, 57, 379-385.
 28. Kim, H.R., Rajaiah, R., Wu, Q.L., Satpute, S.R., Tan, M.T., Simon, J.E. 2008. Green tea protects rats against autoimmune arthritis by modulating disease-related immune events. *The Journal of Nutrition*, 138(11), 2111-16.
 29. Lee, J., Duan, W., Long, J.M., Ingram, D.K., Mattson, M.P. 2000. Dietary restriction increases the number of newly generated neural cells, and induces BDNF expression, of low sulphite beef patties. *Meat Science*, 77 (4), 626-633.
 13. Blaxhaland, P.C., Dasely, D.K., 1973. Routine hematological methods for use with fish blood *Journal Fish Biologu*, 5, 771-781.
 14. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F. 2004. Hematologic and serum biochemical values for hundiá (*Rhamdiquelem*), *Fish, Physiol, Biochem*, 30, 21-25.
 15. Cho, S.H., Lee, S., Park, B.H. and Lee, S., 2006. Effect of feeding ratio on growth and body composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed extruded pellets during the summer season. *Aquaculture*, 251, 78-84.
 16. Cho, S.H., Lee, S.M., Park, B.H., Ji, S.C., Lee, J., Bae, J., Oh, S.Y. 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*, 33(1), 49-57.
 17. Densmore, C.L., Blazer, V.S., Waldrop, T.B., Pooler, P.S. 2001. Effects of Whirling Disease on Selected Hematological Parameters in Rainbow Trout. *Journal of Wildlife Diseases*, 37, 375-378.
 18. Dijkstra, J.M., Dixon, B., 2021. Immunogenetics special issue 2021: Fish Immunology. *Immunogenetics*, 73, 1-3.
 19. Fernandez, P.I., Paplos, F., 2002. Multi-Element Analysis of tea Beverage by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. *Food Chemistry*, 79(3): 483-89.
 20. Filomeni, G., Aquilano, K., Rotilio, G., Ciriolo, M.R. 2003. Reactive oxygen species dependent c-Jun NH2-terminal kinase/c-Jun signaling cascade mediates neuroblastoma cell death induced by diallyl disulfide. *Cancer Research*, 63(18), 5940-5949.
 21. Gephart, J.A., Golden, C.D., Asche, F., Belton, B., Brugere, C., Froehlich, H.E., Fry, J.P., Halpern, B.S., Hicks, C.C., Jones, R.C., Klinger, D.H. 2020. Scenarios for global aquaculture and its role in human nutrition.

38. Saeed, M., Naveed, M., Arif, M., Kakar, M.U., Manzoor, R., El-Hack, M.E.A., Alagawany, M., Tiwari, R., Khandia, R., Munjal, A. 2017. Green tea (*Camellia sinensis*) and l-theanine: Medicinal values and beneficial applications in humans-A comprehensive review. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 95, 1260-1275.
39. Sampantamit, T., Ho, L., Lachat, C., Sutummawong, N., Sorgeloos, P., Goethals, P. 2020. Aquaculture production and its environmental sustainability in Thailand: challenges and potential solutions. *Sustainability*, 12(5), 1-17.
40. Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Zelikoff, J.T., Kattari, S. L., Smith, S.A. 1994. *Techniques in fish Immunology-30*. SOS Publication, Fairhaven USA.
41. Tsuneki, H., Ishizuka, M., Terasawa, M., Wu, J.B., Sasaoka, T., Kimura, I. 2004. Effect of green tea on blood glucose levels and serum proteomic patterns in diabetic (db/db) mice and on glucose metabolism in healthy humans. *BMC Pharmacology*, 4, 18.
42. Wu, L.Y., Juan, C.C., Hwang, L.S., Hsu, Y.P., Ho, P.H., Ho, L.T. 2004. Green tea supplementation ameliorates insulin resistance and increases glucose transporter IV content in a fructose-fed rat model. *European Journal of Nutrition*, 43 (2), 116-124.
- in the dentate gyrus of rats. *Journal of Molecular Neuroscience*, 15(2), 99-108.
30. Mohammadi, F., Choobkar, N., Moradi, Z. 2019. Accessibility the fry of *Mugil cephalus* to the extract of *Camellia sinensis* concerning growth performance and haematology indices. *Iranian Journal of Aquatic Animal Health*, 5 (1), 17-25.
31. Nie, S.H., Xie, M., Zhihong, Fu, Wan, Y., Yan, A. 2007. Study on the purification and chemical compositions of tea glycoprotein. *Carbohydrate Polymers*, 71, 626-633.
32. Osawa, K., Saeki, T., Yasuda, H., Hamashima, H., Sasatsu, M., Arai, T. 1999. The antibacterial activities of peppermint oil and green tea polyphenols, alone and in combination, against enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Biocontrol Science*, 4, 17.
33. Park, S., Park, S., Huh, M., Hong, Y., 1999. Inhibitory effect of green tea extract on collagenase activity and growth of fish pathogenic bacteria. *Journal of Fish Pathology*, 12, 83-88.
34. Park, G., Yoon, B.S., Moon, J.H., Kim, B., Jun, E.K., Oh, S. 2008. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate suppresses collagen production and proliferation in keloid fibroblasts via inhibition of the STAT3-signaling pathway. *Journal of Investigative Dermatology*, 128 (10), 2429-2441.
35. Rattanachaikunsopon, P., Phumkhachorn, P. 2010. Potential of cinnamon (*Cinnamomum verum*) oil to control *Streptococcus iniae* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Science*, 76, 287-293.
36. Ryu, O.H., Lee, J., Lee, K.W., Kim, H.Y., Seo, J.A., Kim, S.G. 2006. Effects of green tea consumption on inflammation, insulin resistance and pulse wave velocity in type 2 diabetes patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 71 (3), 356-358.
37. Sabu, M.C., Smitha, K., Kuttan, R. 2002. Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 83(1-2), 109-116.