

اثر تغذیه‌ای پودر پیاز (*Allium cepa*) بر برخی فراسنجه‌های ایمنی، بیوشیمی و آنزیم‌های سرم خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

رضا اکرمی*، مهشید شاملوفر^۱

۱- گروه شیلات، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران، صندوق پستی: ۴۹۶۱۷-۸۹۹۸۵

تاریخ پذیرش: ۵ آذر ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۳ تیر ۱۳۹۶

چکیده

هدف این پژوهش ارزیابی تجویز خوراکی پودر پیاز در جیره بر برخی پارامترهای ایمنی و بیوشیمی سرم خون ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بود. بچه‌ماهیان کپور با وزن متوسط $18 \pm 1/9$ گرم با جیره حاوی پودر پیاز در سطوح مختلف صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد به مدت ۸ هفته تغذیه شدند. در انتهای دوره آزمایش از ماهیان به ظاهر سالم خون‌گیری شد و شاخص‌های بیوشیمی نظیر پروتئین تام، آل‌بومین، کلسترول، تری‌گلیسرید و گلوکز و فعالیت آنزیم‌های متابولیک مشتمل بر آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، فسفاتاز قلیایی (ALP) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) و شاخص‌های ایمنی شامل فعالیت لیزوزیم، فعالیت مسیر جانبی کمپلمان (ACH50) و ایمنوگلوبولین (Ig) سرم خون مورد سنجش قرار گرفتند. نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار پروتئین تام سرم در تیمار ۰/۵ درصد پودر پیاز بود ($P < 0/05$). ولی در سایر شاخص‌های بیوشیمی تفاوت معنی‌داری بدست نیامد ($P > 0/05$). کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های ALT و ALP در ماهیان تغذیه شده با سطح ۰/۵ درصد پودر پیاز در جیره مشاهده گردید. افزایش معنی‌داری در فعالیت لیزوزیم سرم در تیمار ۰/۵ درصد پودر پیاز بدست آمد ($P < 0/05$) ولی در فعالیت مسیر جانبی کمپلمان و ایمنوگلوبولین تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($P > 0/05$). نتایج این مطالعه نشان داد افزودن ۰/۵ درصد پودر پیاز به جیره غذایی ماهی کپور معمولی اثر مثبتی بر بهبود شاخص‌های بیوشیمی، آنزیم‌های متابولیک و ایمنی دارد.

کلمات کلیدی: پیاز، بیوشیمی، آنزیم، ایمنی، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*).

مقدمه

در دهه‌های اخیر به دلیل افزایش جمعیت و رویکرد عمومی به مصرف غذاهای سالم، مصرف آبزیان در جهان در حال افزایش است. این امر موجب شده است تا بهره‌برداری از ذخائر آبزیان از دریا و آب‌های داخلی به حدی بالا رود که آن‌ها را با خطر نابودی مواجه سازد از همین رو پیش‌بینی می‌شود که در دو دهه آینده، آبی‌پروری نقش بسزایی را در تأمین غذای بشر و کاهش فقر جهانی ایفاء کند (صابریان جویباری و همکاران، ۱۳۹۶). کپور معمولی به عنوان یکی از گونه‌های مهم ماهیان پرورشی، نقش مهمی در افزایش نرخ تولیدات آبی‌پروری در سطح جهان ایفا می‌کند (شریف‌زاده و همکاران، ۱۳۹۵). با این حال، افزایش تولید این گونه در واحد سطح موجب ایجاد مشکلاتی شده که از آن جمله می‌توان به بروز بیماری‌های عفونی و خسارات ناشی از آن‌ها، استفاده مکرر از برخی آنتی‌بیوتیک‌ها و مواد شیمیایی و در نتیجه به خطر افتادن سلامت مصرف‌کنندگان اشاره نمود (Nakanishi et al., 2002). این گونه مشکلات موجب شده تا طی سال‌های اخیر استفاده از برخی مواد محرک ایمنی در غذای آبزیان پرورشی متداول شود (Gannam and Schrock, 2001). محرک‌های ایمنی با تقویت سیستم ایمنی غیراختصاصی مقاومت ماهی را در برابر بیماری‌های عفونی افزایش می‌دهند. این مواد به عنوان عوامل دارویی برای کنترل بیماری‌ها از اهمیت زیادی برخوردار هستند چون فاقد هر گونه اثرات منفی موجود در آنتی‌بیوتیک‌ها و واکنش‌های زنده بر محیط زیست هستند و از آنجا که جزء ترکیبات طبیعی محسوب می‌شوند، باقیمانده‌های دارویی نامطلوب ایجاد نمی‌کنند

(Talpur and Ikhwanuddin, 2012). از عملکردهای مهم محرک‌های ایمنی می‌توان به افزایش قدرت بیگانه‌خواری، افزایش تولید آنتی‌بادی، افزایش لیزوزیم، افزایش مهاجرت گلبول‌های سفید و غیره اشاره نمود (Sakai, 1999). گیاهان دارویی با داشتن مزیت‌هایی از جمله عوارض جانبی کم، سهولت دسترسی، امکان تولید در سطح وسیع، قیمت مناسب و خطر کمتر برای محیط زیست و جانور، عدم ایجاد مقاومت نسبی عوامل بیماری‌زا به داروهای گیاهی، انحصاری بودن درمان برخی بیماری‌ها با گیاهان دارویی و وجود تجربیات مختلف بالینی در رابطه با گیاهان دارویی همواره به‌عنوان جایگزین مناسب برای داروهای شیمیایی مورد توجه هستند (قاسمی پیربلوطی و همکاران، ۱۳۹۰). از محرک‌های ایمنی زیستی و طبیعی مؤثر در ماهیان می‌توان به برخی ترکیبات که منشأ گیاهی دارند مثل پیاز اشاره نمود. پیاز خوراکی با نام علمی (*Allium cepa*) از خانواده *Alliaceae* می‌باشد. با توجه به ارزش غذایی این محصول یعنی وجود کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها (به مقدار کم)، عناصر مختلف، ویتامین‌ها (B1, B2, B6, C, E و بیوتین)، اسید نیکوتینیک، اسید پالمیتیک و داشتن روغن‌های فرار گوگردی (الیل پروپیل‌دی‌سولفید و پروپنیل پروپیل‌دی‌سولفید) باعث ایجاد طعم و بو، خاصیت ضدباکتری و کاهندگی قند خون شده است و همچنین با دارا بودن ماده‌ای بنام پروستاگلاندین که پایین آورنده فشارخون می‌باشد، موجب شده که میزان مصرف این محصول هر سال بالاتر رود (Rabinowitch and Brewster, 1990). پودر پیاز حاوی ۱۳/۶۳ درصد پروتئین، ۲/۹ درصد چربی، ۲۴/۱۸ درصد فیبر، ۱۴/۵۶ درصد خاکستر، ۱۴/۱۸ درصد

قرمز حوض (*Carrassius auratus*)، Lee و Cho (۲۰۱۲) در ماهی فلاندرژاپنی (*Paralichthys olivaceus*) و Akrami و همکاران (۲۰۱۵) در فیل ماهی پرورشی (*Huso huso*) اشاره کرد. با توجه به اهمیت محرک‌های ایمنی در پیشگیری از بیماری‌های عفونی و غیرعفونی و کاهش تلفات و افزایش تولید در صنعت آبی پروری و همچنین اهمیت تقویت سیستم ایمنی در ماهی کپور پرورشی که صنعت پرورش آن در حال حاضر در داخل کشور به خوبی توسعه یافته است در این مطالعه تأثیر استفاده از پودر پیاز به عنوان یک نوع محرک ایمنی طبیعی بر شاخص‌های ایمنی، فعالیت آنزیم‌های متابولیک و بیوشیمی سرم خون ماهی کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

شرایط آزمایش: پس از سازگاری اولیه و عادت‌پذیری ماهیان با شرایط آزمایش؛ ۲۴۰ عدد ماهی کپور معمولی با وزن متوسط اولیه $18 \pm 1/9$ گرم با تراکم ۲۰ عدد در ۱۲ مخزن ۵۰ لیتری توزیع شدند. در کل دوره آزمایش میانگین دمای آب $26/80 \pm 2/68$ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن $5/60 \pm 0/95$ میلی‌گرم در لیتر و $8/8 \pm 0/9$ pH، دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و میزان تعویض روزانه آب ۵۰ درصد حجم مخزن بود.

آماده‌سازی جیره: پودر پیاز مورد استفاده در این آزمایش از شرکت همیشک (شهرک صنعتی عباس آباد) تهیه شد که حاوی ۱۰۰٪ پودر پیاز خالص بود. به منظور بررسی اثر این محرک گیاهی بر شاخص‌های رشد از طرح کاملاً تصادفی متعادل شامل چهار سطح

عصاره عاری از ازت و $162/84$ کالری انرژی خام در هر ۱۰۰ گرم ماده خشک می‌باشد (Hafez et al., 2011). تأثیرات پیاز به عنوان ضدباکتری، آنتی‌اکسیدان و ضدسرطان شناخته شده است. همچنین پیاز چربی سازی درونی را کاهش و باعث کاهش کلسترول می‌شود و کاتابولیسم چربی را افزایش می‌دهد و ضدچربی و ضدلختگی خون است. بنابراین پیاز یک تنظیم‌کننده سیستم ایمنی است که کاملاً طبیعی بوده و به عنوان یک افزودنی خوراکی پذیرفته شده است. گیاهان خانواده *Allium* منبع مهمی از فلاونوئیدهای رژیم غذایی هستند (Tepe et al., 2005). گزارش‌های قبلی نشان داده‌اند که فلاونوئیدهای موجود در غذا و ترکیبات فنولی دیگر مانند فلاونول‌های کورستین، کامفرول، اسید گالیک و میرستین دارای اثرات بیولوژیکی مانند فعالیت‌های آنتی‌باکتریایی، آنتی‌ویروسی و ضدآلرژیک هستند. بعلاوه فلاونوئیدها پراکسیداسیون لیپیدها را مهار کرده و به عنوان آنتی‌اکسیدان‌ها، جمع‌آوری‌کننده رادیکال‌های آزاد و شلات‌کننده کاتیون‌های دو ظرفیتی شناخته شده‌اند (Miller et al., 2000). فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی با منشأ گیاهی به عنوان جمع‌آوری و مهارکننده‌های پراکسیداسیون لیپید گزارش شده‌اند (Sundararajan et al., Musekil et al., 2007; 2006). فلاونوئیدهای موجود در پیاز اساساً به صورت گلیکوزیدهایی از کورستین و کامفرول حضور دارند و از خود فعالیت ضداکسایشی نشان می‌دهند (Brand-Williams et al., 1995). در خصوص مطالعه تاثیر پودر پیاز در جیره آبریان پرورشی می‌توان به مطالعات اکبری‌نیا (۱۳۹۰) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان اکبری‌نیا (*Oncorhynchus mykiss*)، ریگی (۱۳۹۳) در ماهی

در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایش نگاه‌داری شدند.

سنجش پارامترهای بیوشیمی: اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمی سرم با استفاده از دستگاه Semianalyser مدل SEAC طبق دستورالعمل شرکت سازنده با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون) انجام شد. پروتئین تام به روش بیوره (Biuret)، آلبومین به روش بروموکرزول (Bromocresol Green)، کلسترول به روش کلسترول اکسیداز (Cholesterol oxidase)، تری‌گلیسرید به روش آنزیمی لیپاز (Lipase/GPO-PAP) و گلوکز به روش گلوکز اکسیداز (Glucose oxidase) اندازه‌گیری شد. سنجش فعالیت آنزیم‌های متابولیک شامل آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) به روش رنگ‌سنجی کینتیک و آلکالین فسفاتاز (ALP) به روش آنزیماتیک کینتیک صورت گرفت (Borges et al., 2004).

سنجش پارامترهای ایمنی: سنجش لیزوزیم از روش ارائه شده توسط Sahoo (۲۰۰۶) استفاده شد. به این منظور ۱۵ میکرولیتر پلاسما به پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای شکل الایزا، افزوده شد. سپس ۱۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری میکروکوکوس لیزودیکتیکوس (*Micrococcus lysodeikticus*) تهیه شده در بافر سترات سدیم ۰/۰۲ مولار و pH برابر ۵/۵ به میزان ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر اضافه گردید و جذب نوری اولیه در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر (Bio-Tek ساخت کشور آمریکا) اندازه‌گیری شد و پس از یک ساعت نگاه‌داری در دمای اتاق، مجدداً جذب نوری اندازه‌گیری شد. لیزوزیم سفیده تخم‌مرغ لیوفلیزه شده نیز به منظور ترسیم منحنی استاندارد استفاده

صفر (شاهد)، ۱/۰۵ و ۲ درصد پودر پیاز در جیره استفاده شد. در این آزمایش از غذای کنسانتره پلت شرکت خوراک دام آبریان مازندران (حاوی ۳۹ درصد پروتئین خام، ۱۸ درصد چربی خام و ۱۹/۰۳ مگاژول در کیلوگرم انرژی خام) استفاده شد. برای تهیه جیره‌ها ابتدا غذای کنسانتره و پودر پیاز در سطوح مورد نظر توسط ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم به صورت جداگانه وزن شدند. در ادامه غذای کنسانتره پایه توسط میکسر پودر و نرم شد. سپس پودر پیاز در سطوح مورد نظر به جیره اضافه و کاملاً مخلوط شدند. سپس مقداری آب (۵۰۰ سی‌سی به ازای هر کیلوگرم) به مخلوط حاصل اضافه شد تا به صورت خمیر نرم و شکل‌پذیر در آمد، سپس به وسیله چرخ‌گوشت با قطر چشمه ۱-۲ میلی‌متر به رشته‌هایی تبدیل شد و در نهایت در سایه قرار گرفت تا با جریان هوا خشک شود (Akrami et al., 2013). در طول دوره آزمایش، غذادهی به بچه‌ماهیان بر اساس مشاهدات و رفتار تغذیه‌ای آنها روزانه ۲ بار با فواصل زمانی ۸ ساعت (۰۹:۰۰ و ۱۷:۰۰) و تا حد سیری به مدت ۸ هفته انجام گرفت.

نمونه‌گیری و خون‌گیری: خون‌گیری از ماهیان در انتهای دوره پرورش صورت گرفت. ۲۴ ساعت قبل از خون‌گیری تغذیه ماهیان قطع شد و سپس ۳۶ عدد ماهی (۳ ماهی به ازای هر تکرار) به ظاهر سالم به طور تصادفی انتخاب شدند و از ورید ساقه دمی آنها خون‌گیری شد. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده به لوله‌های سرولوژی فاقد ماده ضدانعقاد منتقل گردید. سپس با استفاده از سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سرم جدا و با سمپلر در لوله‌های کوچک تخلیه و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال و

تجزیه واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون دانکن صورت گرفت. وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه‌ی 9.05) انجام پذیرفت و مقادیر $P < 0.05$ معنی دار تلقی گردید.

نتایج

شاخص‌های بیوشیمی سرم خون: نتایج حاصل از تأثیر سطوح متفاوت پودر پیاز بر شاخص‌های بیوشیمی سرم خون بچه ماهیان کپور معمولی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه حاکی از افزایش معنی‌دار پروتئین تام سرم در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ درصد پودر پیاز در جیره بود ولی تفاوت معنی‌داری در میزان آلبومین، کلسترول، تری‌گلیسیرید و گلوکز سرم بین تیمارهای مختلف در انتهای آزمایش مشاهده نشد ($P > 0.05$).

گردید. به منظور تعیین ایمنوگلوبولین کل از کیت شرکت پارس آزمون و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر مدل Eurolyser ساخت کشور اتریش استفاده گردید. غلظت ایمنوگلوبولین کل بر اساس روش شرح داده شده توسط Siwicki and Anderson (۱۹۹۳) اندازه‌گیری شد. بطور خلاصه ابتدا پروتئین تام پلاسما اندازه‌گیری گردید، سپس ایمنوگلوبولین پلاسما به روش ترسیب نمکی رسوب داده شد و میزان پروتئین مایع رویی اندازه‌گیری شد. نهایتاً میزان ایمنوگلوبولین تام پلاسما با تفریق پروتئین مایع رویی از پروتئین تام محاسبه شد. سنجش کمپلمان (ACH50) توسط مسیر مکمل جایگزین (ACP) با برخی تغییرات که توسط Sitja-Bobadilla و همکاران (۲۰۰۵) ارائه گردیده انجام گرفت.

روش آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل بر روی داده‌های مربوط به تغییرات شاخص‌های ایمنی، بیوشیمی و آنزیم‌های سرمی خون ماهیان کپور تغذیه شده با سطوح مختلف پودر پیاز از طریق آزمون

جدول ۱: مقایسه شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون (میانگین \pm انحراف معیار) بچه‌ماهیان کپور تغذیه شده با سطوح مختلف پودر پیاز در جیره پس از ۸ هفته

شاخص	تیمار	شاهد	۰/۵٪ پودر پیاز	۱٪ پودر پیاز	۲٪ پودر پیاز
پروتئین تام (میلی گرم بر دسی لیتر)		۵/۲۴ \pm ۰/۵ ^b	۵/۶۴ \pm ۰/۳ ^a	۵/۲۹ \pm ۰/۴ ^b	۵/۲۸ \pm ۰/۱ ^b
آلبومین (گرم بر دسی لیتر)		۱/۴۵ \pm ۰/۲ ^a	۱/۶۶ \pm ۰/۱۵ ^a	۱/۶۳ \pm ۰/۱۷ ^a	۱/۵۳ \pm ۰/۱۲ ^a
کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر)		۱۸۵/۷ \pm ۹/۲ ^a	۱۷۲/۳ \pm ۲/۵ ^a	۱۷۳/۶ \pm ۹/۵ ^a	۱۷۳/۵ \pm ۵/۵ ^a
تری‌گلیسیرید (میلی گرم بر دسی لیتر)		۲۷۸/۵ \pm ۹/۶ ^a	۲۴۵/۸ \pm ۱۲/۳ ^a	۲۶۰/۳ \pm ۷/۶ ^a	۲۵۷/۸ \pm ۳۶/۷ ^a
گلوکز (میلی گرم بر دسی لیتر)		۱۱۵/۶ \pm ۵/۱ ^a	۹۷/۶ \pm ۱۵/۵ ^a	۱۰۴/۳ \pm ۵/۲ ^a	۱۰۶/۸ \pm ۱۰/۳ ^a

میانگین‌های در یک ردیف که حروف کناری آنها شبیه هم یا حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دارند ($P < 0.05$).

داد میزان این شاخص در ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف پودر پیاز در مقایسه با گروه شاهد از کاهش

فعالیت آنزیم‌های متابولیک: فعالیت آنزیم فسفاتازقلیایی (ALP) سرم خون بچه ماهیان کپور نشان

معنی‌داری برخوردار بود ($P < 0/05$). همچنین کاهش معناداری در فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در تیمار ۰/۵٪ پودر پیاز بدست آمد و وجود نداشت ($P > 0/05$) (جدول ۲).

معنی‌داری برخوردار بود ($P < 0/05$). همچنین کاهش معناداری در فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در تیمار ۰/۵٪ پودر پیاز بدست آمد

جدول ۲: مقایسه فعالیت آنزیم‌های سرمی خون (میانگین \pm انحراف معیار) بچه‌ماهیان کپور تغذیه شده با سطوح مختلف پودر پیاز در جیره پس از ۸ هفته

شاخص	تیمار	شاهد	۰/۵٪ پودر پیاز	۱٪ پودر پیاز	۲٪ پودر پیاز
ALT (واحد در لیتر)	۳۹/۷ \pm ۶/۵ ^a	۲۰/۵ \pm ۱/۳ ^b	۲۵/۲ \pm ۸/۴ ^{ab}	۳۴/۲ \pm ۵/۱ ^{ab}	
ALP (واحد در لیتر)	۵۱۹/۴ \pm ۵۹/۵ ^a	۳۳۱/۳ \pm ۲۶/۳ ^b	۳۷۵/۲ \pm ۱۲/۴ ^b	۴۱۰/۴ \pm ۵۸/۱ ^{ab}	
LDH (واحد در لیتر)	۱۸۰۰/۳۳ \pm ۸۴/۹ ^a	۱۲۶۲/۱۳ \pm ۳۱/۴ ^a	۱۷۴۰/۶ \pm ۷۰/۵ ^a	۱۳۷۲/۷ \pm ۹۱/۵ ^a	

میانگین‌های در یک ردیف که حروف کناری آنها شبیه هم یا حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دارند ($P < 0/05$).

مختلف مشاهده گردید ($P < 0/05$). اما در میزان فعالیت مسیر جانبی کمپلمان سرم و همچنین میزان ایمونوگلوبولین سرم تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید ($P > 0/05$).

شاخص‌های ایمنی: جدول شماره ۳ نتایج حاصل از تأثیر سطوح متفاوت پودر پیاز را بر شاخص‌های ایمنی بچه‌ماهیان کپور معمولی نشان می‌دهد. بر اساس نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه، تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت لیزوزیم سرم بین تیمارهای

جدول ۳: مقایسه فعالیت شاخص‌های ایمنی (میانگین \pm انحراف معیار) بچه‌ماهیان کپور تغذیه شده با سطوح مختلف پودر پیاز در جیره پس از ۸ هفته

شاخص	تیمار	شاهد	۰/۵٪ پودر پیاز	۱٪ پودر پیاز	۲٪ پودر پیاز
لیزوزیم (واحد در میلی‌لیتر)	۳۶/۱ \pm ۸/۸ ^a	۳۷/۴ \pm ۹/۹ ^a	۵۰/۴ \pm ۵/۸ ^{ab}	۶۷/۴ \pm ۹/۱ ^b	
مسیر جانبی کمپلمان (درصد)	۸۷/۵ \pm ۸/۸ ^a	۶۴/۳ \pm ۹/۳ ^a	۶۶/۲ \pm ۵/۴ ^a	۸۳/۴ \pm ۹/۲ ^a	
ایمونوگلوبولین (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴/۲ \pm ۰/۷ ^a	۵/۳ \pm ۰/۴ ^a	۱۵/۶ \pm ۰/۵ ^a	۳/۷ \pm ۰/۰ ^a	

میانگین‌های در یک ردیف که حروف کناری آنها شبیه هم یا حداقل دارای یک حرف مشترک هستند فاقد اختلاف معنی‌دارند ($P < 0/05$).

بحث

پیاز در جیره بدست آمد. در سایر شاخص‌های بیوشیمی تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نگردید. اگرچه افزایشی در شاخص آلبومین و کاهشی در میزان گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول ایجاد شد. فاکتورهای خونی و سرمی در گونه‌های مختلف آبی‌پروری با هم تفاوت داشته و وابستگی زیادی با شرایط محیطی، تغذیه‌ای،

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از پودر پیاز در سطوح مختلف مورد مطالعه در مجموع تا حدی باعث بهبود مشخصه‌های بیوشیمی سرم خون ماهی کپور معمولی گردید بدین ترتیب که افزایش معنی‌داری در شاخص پروتئین تام سرم در تیمار ۰/۵ درصد پودر

در جیره گزارش شده است ولی در مورد آلبومین اتفاق نظر وجود نداشت (Akrami *et al.*, 2015). در تحقیقی دیگر نیز تجویز خوراکی سطوح مختلف پودر پیاز در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین کمان میزان پروتئین و آلبومین را تحت تأثیر قرار نداد (اکبری‌نیا، ۱۳۹۱). Al-Salahy (۲۰۰۲) افزایشی در سطح پروتئین سرم بدنبال تجویز آب پیاز به میزان ۲ گرم در کیلوگرم بمدت ۵ روز متوالی (repeated dose) در گونه *Clarias lazera* گزارش کرد اگرچه این افزایش معنادار نبود. تفاوت در نتایج تحقیقات مختلف را می‌توان به تفاوت‌های گونه‌ای، شرایط محیطی پرورش، نوع مکمل گیاهی، آماده‌سازی و تاثیر گونه ماهی در پاسخ به مکمل گیاهی مورد استفاده ربط داد (Akrami *et al.*, 2015).

گلوکز خون متغیرترین پارامتری است که به میزان بسیار زیادی تحت تأثیر استرس دستکاری و حمل، استرس محیطی، تغییرات فصلی، وضعیت تغذیه‌ای و بلوغ جنسی قرار دارد (Hisano *et al.*, 2007). در مطالعه حاضر مقادیر گلوکز خون ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف پودر پیاز در دامنه ۹۷/۶-۱۱۵/۶ گرم در دسی‌لیتر بود. کمترین مقدار گلوکز در سطح ۰/۵ درصد پودر پیاز در جیره بدست آمد. اگرچه با تفاوت معنی داری همراه نبود. Srinivasan (۲۰۰۵) گزارش کرد ترکیبات فعال زیستی موجود در پیاز مانند متین (methiin) و سولفوکسیدسیستین-S-آلیل (S-allyl cysteine sulphoxide)، با انجام فعالیت ضد دیابتی شان بواسطه تحریک تولید انسولین مترشحه توسط پانکراس، در جذب قند از رژیم غذایی و ذخیره مطلوب انسولین دخالت می‌کنند. بطور مشابهی تفاوت معنی‌داری در میزان گلوکز سرم در ماهی قزل‌آلای

سن و ... دارد. بنابراین باید برای هر گونه، در شرایط اقلیمی هر منطقه، مقادیر طبیعی این فاکتورها وجود داشته باشد. مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی معمولاً بعنوان ابزار تشخیصی در بیماری‌های ماهی مورد استفاده قرار نمی‌گیرند. چراکه دامنه مرجع برای گونه‌های مختلف ماهی وجود ندارد و از طرفی تغییر در آنالیزهای خونی با بیماری‌های مشخص و اختلالات متابولیک همراه هستند. بنابراین آنالیزهای بیوشیمیایی کلینیکی برای کشف اختلالات متابولیک و بیماری‌های زیرکشنده‌گی که بر میزان تولید مؤثرند گسترش یافته‌اند (Shalaby *et al.*, 2006).

پروتئین تام یک پارامتر وابسته به منظور ارزیابی وضعیت فیزیولوژیک ماهی است و یک ابزار کمکی تشخیصی محسوب می‌شود. از سوئی میزان پروتئین تام و آلبومین می‌تواند وضعیت تغذیه‌ای و سلامتی ماهی را به تصویر کشد (Svetina *et al.*, 2002). افزایش در میزان پروتئین و آلبومین افزایش نسبتاً زیادی در ایمنی ذاتی منعکس می‌نماید، به عبارت دیگر افزایش در غلظت پروتئین تام و آلبومین می‌تواند به علت واکنش‌های غیراختصاصی قوی‌تر در ماهی باشد (Tavares-Dias and Moraes, 2007). در تحقیق جاری نیز افزایش پروتئین تام در تیمارهای حاوی پودر پیاز به ویژه در سطح ۰/۵ درصد جیره می‌تواند حاکی از عملکرد مناسب کبد و کلیه باشد. از آنجا که رابطه نزدیکی بین میزان پروتئین سنتز شده در بافت کبد و پروتئین پلاسما وجود دارد، شاید افزایش سطح کل پروتئین پلاسما بواسطه افزایش سنتز پروتئین در بافت کبد ماهیان تغذیه شده با پودر پیاز باشد. در شباهت با نتایج تحقیق حاضر افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین تام در فیل ماهیان جوان پرورشی تغذیه شده با پودر پیاز

بواسطه تجویز آب پیاز به میزان ۲ گرم در کیلوگرم بمدت ۵ روز متوالی (repeated dose) در گونه *Clarias lazera* گزارش کرد ولی تفاوت معنی‌داری در میزان کلسترول گزارش نکرد. اکبری‌نیا (۱۳۹۱) با افزودن سطوح مختلف پودر پیاز به جیره ماهی قزل‌آلای پرورشی تفاوت معنی‌داری در سطوح کلسترول و تری‌گلیسرید سرم مشاهده نکرد که منطبق با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. برخلاف یافته تحقیق حاضر؛ بدن‌بال تجویز خوراکی پودر پیاز در جیره کاهشی در میزان کلسترول سرم خون ماهی قرمز گزارش شده است (ریگی، ۱۳۹۳). همچنین Akrami و همکاران (۲۰۱۵) کاهش تری‌گلیسرید و کلسترول را در فیل‌ماهیان جوان تغذیه شده با جیره حاوی ۱ درصد پودر پیاز در جیره گزارش کردند. برخی اختلافات را می‌توان ناشی از نوع گونه، شرایط محیطی پرورش و ... ربط داد (Cho and Lee, 2012).

آنزیم‌های ALT, AST, ALP به آنزیم‌های اختصاصی غیرپلاسمایی تعلق دارند که نه تنها در پلاسمای خون بلکه در بافت کبد، قلب، آبشش‌ها، کلیه، ماهیچه‌ها و سایر ارگان‌ها یافت می‌شوند (Yilmaz et al., 2006). همچنین آنها می‌توانند اطلاعاتی ویژه‌ای در مورد عملکرد و نارسایی این اندام‌ها بدهند. میزان ALT, AST, ALP و ALT به‌عنوان اندیکاتور فعالیت کبد به کار می‌روند و جزء آنزیم‌های مهم در بررسی وضعیت سلامتی ماهیان هستند (Racicot, et al., 1975) و سلول‌های کبدی غنی از این آنزیم‌ها می‌باشند. LDH اغلب برای ارزیابی وجود آسیب‌های بافتی کبد اندازه‌گیری می‌شود (Yilmaz et al., 2006). نتایج تحقیق حاصل نشانگر کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم ALT و ALP در سطح

تغذیه شده با پودر پیاز مشاهده نگردید (اکبری‌نیا، ۱۳۹۱). در تفاوت با یافته تحقیق حاضر؛ کاهش معنی‌دار گلوکز در فیل‌ماهیان تغذیه شده با پودر پیاز گزارش شده است. که علت این اختلاف را می‌توان به تفاوت گونه و شرایط محیطی نسبت داد (Akrami et al., 2015). مطالعات نشان می‌دهند اگرچه استفاده از افزودنی‌های گیاهی تاثیر مثبتی بر بسیاری از شاخص‌های فیزیولوژیک دارند ولی استفاده از آنها در جیره وابسته به دوز می‌باشد بطوری که مقادیر بیشتر یا کمتر از حد مجاز می‌تواند اثر مهارکنندگی و یا بدون تاثیر داشته باشد (Awad, et al., 2013). تحقیقات نشان داده‌اند که پیاز حاوی ترکیباتی با ظرفیت کاهش سطح تری‌گلیسرید خون بوده و مانع بیوسنتز کلسترول در شرایط آزمایشگاهی می‌شود (Effendy et al., 1997). آلیسین و ترکیبات مشتق شده آن در پیاز مهم‌ترین مواد اصلی مسئول کاهش چربی و کلسترول در مطالعات انسانی و جانوری هستند (Yeh Liu and Yeh, 2002; et al., 1997). از سوی دیگر، کورستین (quercetin) مهم‌ترین فلاونوئید موجود در پیاز است که بواسطه ممانعت از فعالیت سنتز اسیدچرب از بیوسنتز کلسترول پیشگیری می‌کند (Yamamoto and Oue, 2006). بنابراین کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید سرم در ماهی کپور تغذیه شده با جیره حاوی پودر پیاز را می‌توان به تاثیر کورستین در سنتز کلسترول نسبت داد. اگرچه تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی با تیمار شاهد مشاهده نگردید. نتایج این تحقیق با نتایج Lee و Cho (۲۰۱۲) مشابهت دارد که گزارش کردند میزان کلسترول و تری‌گلیسرید در نتیجه افزودن پودر پیاز به جیره ماهی فلاندرژاپنی تحت تاثیر قرار نگرفت. Al-Salahy (۲۰۰۲) کاهش را در سطح کلسترول

۰/۵ درصد پودر پیاز بود. اگرچه در مجموع بچه‌ماهیان کپور تغذیه شده با سطوح مختلف پودر پیاز در جیره در مقایسه با گروه شاهد کاهش را در میزان فعالیت آنزیم‌های سرمی به نمایش گذاشتند. ولی فعالیت آنزیم LDH تحت تأثیر پودر پیاز در جیره قرار نگرفت. با توجه به کاهش سطوح آنزیم‌های متابولیک در گروه‌های حاوی پودر پیاز می‌توان این‌گونه اظهار کرد که افزودن پیاز منجر به آسیب‌های کبدی نگردیده است. با توجه به خواص ضدرادی‌کالی و آنتی‌اکسیدانی پیاز، استفاده از آن ممکن است از پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلول پیشگیری نماید و مانع از آزاد شدن آنزیم‌های فوق به داخل پلاسما گردد. بنابراین، پیاز بواسطه فلاونوئیدهای غنی موجود در آن ممکن است از بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو پیشگیری نماید و در نتیجه مفید واقع شود. گزارش شده تجویز خوراکی ۰/۵ درصد پودر پیاز به جیره غذایی فیل‌ماهیان جوان پرورشی منجر به کاهش معنی‌دار سطوح آنزیم‌های کبدی LDH و AST گردید (Akrami et al., 2015). همچنین کاهش در هر دو سطح ALT و AST بواسطه تجویز آب پیاز بمدت ۵ روز متوالی (repeated dose) در گونه *Clarias lazera* گزارش شده است (Al-Salahy, 2002). Lee و Cho (۲۰۱۲) تفاوت معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های AST و ALT در ماهی فلاندر ژاپنی تغذیه شده با جیره حاوی پودر مشاهده نکردند.

مطالعات متعدد نشان داده پارامترهای ایمنولوژیکی پس از تجویز افزودنی‌های گیاه به شکل تزریق داخل صفاقی یا خوراکی در ماهی بهبود یافته و ماهی تحت درمان، افزایش فعالیت لیزوزیم، فعالیت فاگوسیتوزی، افزایش فعالیت انفجار تنفسی و افزایش پروتئین‌های

پلاسما (گلوبولین و آلبومین) را نشان داده است اگرچه در بسیاری از موارد، مکانیسم مسئول پاسخ فیزیولوژیکی در ماهی هنوز ناشناخته است (Reverter et al., 2014). نتایج این مطالعه حاکی از افزایش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم سرم در ماهیان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۵ درصد پودر پیاز بود ($P < 0.05$). ولی در فعالیت مسیر جانبی کمپلمان و ایمنوگلوبولین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P > 0.05$) که این مهم بواسطه ترکیباتی نظیر اسید فلونیک، فلاونوئیدها، تیوسولفینات و ترکیبات ارگانوسولفورسولفوردار موجود در پیاز می‌باشد که باعث مقاومت در مقابل بیماری‌های قارچی، انگلی، باکتریایی و ویروسی می‌شود و مقاومت نسبت به این بیماری‌ها که پیدایش آنها در محیط‌های پرورشی اجتناب‌ناپذیر است می‌تواند دلیل محکمی بر افزایش بقا و ایمنی شود (Scalbert and Williamson, 2000). افزایش متغیرهای ایمنی در ماهیان تغذیه شده با پودر پیاز را می‌توان به اثرات آنتی‌اکسیدانی مربوط به فلاونوئید اصلی آن یعنی کورستین نسبت داد که موجب غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود (Teyssier et al., 2001). همچنین اثر تعدیل‌کنندگی پیاز را می‌توان به پلی‌سولفیدهای آلکنیل (alk(en)yl polysulphides) و یا گلیکوزیدهای فلاونوئیدها که در پودر پیاز شناسایی شده‌اند نسبت داد (Teyssier et al., 2001). از سوئی دیگر بهبود پاسخ ایمنی در جیره حاوی پودر پیاز را نیز می‌توان به خاصیت ضدباکتریایی موجود در پیاز ربط داد که تأثیر مثبتی بر روی تعادل فلور میکروبی دستگاه گوارش ماهی کپور معمولی داشته است (Lewis et al., 2003). گزارش شده است که افزودن پودر پیاز به جیره ماهی قزل‌آلا باعث افزایش معنی‌دار فعالیت

مختلف از جمله عدم مشاهده تأثیر سوء بر سلامتی ماهی‌ها در طول مدت مصرف، سهولت مصرف، هزینه‌های پائین تهیه و امکان تولید داخلی کاملاً عملی و قابل توصیه می‌باشد.

سپاسگزاری

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

منابع

۱. اکبری نیا، ن.، ۱۳۹۱. تأثیر جیره غذایی حاوی پیاز (*Allium cepa*) بر رشد، عملکرد سیستم ایمنی و پارامترهای خونی بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات دانشگاه آزاد اسلامی واحد آزادشهر، ۱۰۸ صفحه.
۲. ریگی، ف.، ۱۳۹۳. تأثیر جیره غذایی حاوی پودر پیاز بر عملکرد رشد، بازماندگی، پارامترهای هماتولوژی و بیوشیمیایی بچه ماهی کاراس (*Carrassius auratus*) معمولی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات دانشگاه زابل، ۶۳ صفحه.
۳. شریف زاده، س.ع.، ح.، خارا، ح.، قبادی، ش.، ۱۳۹۵. تأثیر ویتامین ریوفلاوین بر میزان رشد، بازماندگی و فاکتورهای خونی و ایمنی ماهی کپور معمولی انگشت قد (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبی‌پروری، ۱۰ (۲)، ۶۳-۷۵.
۴. صابریان جویباری، م.، قبادی، ش.، وطن دوست، ص.، ۱۳۹۶. تأثیر سطوح مختلف پریوتیک A-MAX بر شاخص‌های رشد، بازماندگی و ترکیبات لاشه در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبی‌پروری، ۱۱ (۱)، ۷۷-۸۵.

لیزوزیم سرم نسبت به گروه شاهد شد که منطبق با یافته تحقیق حاضر می‌باشد (اکبری‌نیا، ۱۳۹۱). در همین راستا؛ Akrami و همکاران (۲۰۱۵) افزایش معنی‌دار فعالیت لیزوزیم سرم، انفجار تنفسی و سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۱ درصد پودر پیاز در مقایسه با گروه شاهد در فیل ماهی جوان پرورشی گزارش کردند. همچنین استفاده از سطح ۰/۵ درصد پودر پیاز در جیره کفشک ماهی زیتونی باعث افزایش فعالیت لیزوزیم سرم گردید (Cho and Lee, 2012).

سیستم کمپلمان یک بخش اساسی و مؤثر از سیستم ایمنی ذاتی است و می‌تواند به سرعت در تشخیص باکتری‌ها برای فاگوسیتوزیس توسط فاگوسیت‌های تخصصی و یا نابود کردن باکتری‌ها به‌طور مستقیم توسط اختلال در غشاء عمل نماید (Ahmadi et al., 2014). در تحقیق حاضر؛ فعالیت مسیر جانبی سیستم کمپلمان تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای حاوی پودر پیاز در مقایسه با گروه شاهد نشان ندادند ($P > 0/05$). علاوه بر این؛ فعالیت ایمنوگلوبولین نیز تفاوت معنی‌داری را در بین ماهیان تغذیه شده با سطوح مختلف پودر پیاز نسبت به گروه شاهد نشان نداد اگرچه سطح ۰/۵ درصد پیاز نسبت به سایر تیمارها افزایش داشت. دلیل احتمالی یافته تحقیق حاضر این است که هر مکمل گیاهی یک منطقه خاص از سیستم ایمنی میزبان را تحریک می‌کند و یا این که مدت زمان برای القای پاسخ ایمنی بسته به نوع گیاه دارویی و با توجه به نوع پارامتر ایمنی مورد سنجش متفاوت است (Teyssier et al., 2001).

بنابراین استفاده از پودر پیاز در سطح ۰/۵ درصد جیره از جنبه‌های تولیدی و اقتصادی تأثیر مثبت در ایمنی ماهی کپور معمولی داشته و با توجه به دلایل

- experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 132, 37–42.
15. Gannam, A.L., Schrock, R.M., 2001. Immunostimulants in fish diets: In: Lim, C., Webster, C.D. (Eds.), *Nutrition and Fish Health*. Food Products Press, New York, pp. 235–266.
 16. Hafez, A.M., Eman, M.H., Zaki, M.A., 2011. Response of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings to different replacement levels of fish meal with soybean meal using garlic and onion. National Institute of Oceanography and Fisheries Arabia Saudi. en.engormix.com.
 17. Hisano, H., Barros, M.M., Pezzato, L.E., 2007. Levedura e zinco como pró-nutrientes em rações para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Aspectos hematológicos. *Boletim do Instituto de Pesca*, 33, 35–42.
 18. Lewis, M.R., Rose, S.P., Mackenzie, A.M., Tucker, L.A., 2003. Effects of dietary inclusion of plant extracts on the growth performance of male broiler chickens. *British Poultry Science*, 44, 43–44.
 19. Liu, L., Yeh, Y.Y., 2002. S-alk(en)yl cysteines of garlic inhibit cholesterol synthesis by deactivating HMG-CoA reductase in cultured rat hepatocytes. *The Journal of Nutrition*, 132, 1129–1134.
 20. Miller, H.E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash, A., Kanter, M., 2000. Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *Journal of the American College of Nutrition*, 19, 1–8.
 21. Musekil, J., Garcia-Alonso, M., Martin-Lopez, M. P., Zemlicka, M., Rivas-Gonzalo, J.C., 2007. Measurement of antioxidant activity of wine catechins, procyanidins, anthocyanins and pyranoanthocyanins. *International Journal of Molecular Sciences*, 8, 797–809.
 22. Nakanishi, K., Taniguchi, T., Ranganathan, V., New, H.V., Moreau, L.A., Stotsky, M., Mathew, C.G., Kastan, M.B., Weaver, D.T., D'Andrea, A.D., 2002. Interaction of FANCD2 and NBS1 in the DNA damage response. *Nature Cell Biolololy*, 4, 913–920.
 23. Rabinowitch, H.D., Brewster, J.L., 1990. Onion and allied crops. CRC Press. Inc. Boca Raton. Florida, Vol(I,II,III).
 24. Racicot, J.G., Gaudet, M., leray, C., 1975. Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with emphasis on their diagnostic use: study of CCl4 toxicity and a case of Aeromonas infection. *Journal of Fish Biology*, 7, 825–835.
 25. Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., 2014. Use of plant extracts in fish
5. قاسمی پیربلوطی، ع.، پیرعلی، ا.، پیشکار، غ.، جلالی، م.ع.، ریسی، م.، جعفریان دهکردی، م.، حامدی، ب.، ۱۳۹۰. اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل آلائی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). فصلنامه گیاهان دارویی، ۲(۲)، ۱۴۹–۱۵۵.
 6. Ahmadi, K., Mirvaghefi, A.R., Banaee, M., Vosoghi, A.R., 2014. Effects of long-term diazinon exposure on some immunological and haematological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 6, 1–7.
 7. Akrami, R., Iri, Y., Khoshbavar Rostami, H.A., Razeghi Mansour, M., 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, *lactobacillus* bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. *Fish and Shellfish Immunology*, 35, 1235–1239.
 8. Akrami, R., Gharaei, A., Razeghi Mansour, M., Galeshi, A., 2015. Effects of dietary onion (*Allium cepa*) powder on growth, innate immune response and hemato- biochemical parameters of beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1754) juvenile. *Fish and Shellfish Immunology*, 45, 828–834.
 9. Al-Salahy, M.B., 2002. Some physiological studies on the effect of onion and garlic juices on the fish, *Clarias lazera*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 27, 129–142.
 10. Awad, E., Austin, D., Lyndon, A.R., 2013. Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 388–391, 193–197.
 11. Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F., 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundia (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 30, 21–25.
 12. Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25–30.
 13. Cho, H.C., Lee, S.M., 2012. Onion Powder in the Diet of the Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*): Effects on the Growth, Body Composition, and Lysozyme Activity. *Journal of the World Aquaculture Society*, 43, 30–38.
 14. Effendy, J.L., Simmons, D.L., Campbell, G.R., Campbell, J.H., 1997. The effect of aged garlic extract “Kyolic”, on the development of

- BMC Complementary and Alternative Medicine, 6, 8–10.
34. Svetina, A., Matasin, Z., Tofant, A., Vucemilo, M., Fijan, N., 2002. Haematology and some blood chemical parameters of young carp till the age of three years. *Acta Veterinaria Hungarica*, 50, 459–467.
 35. Talpur, A.D., Ikhwanuddin, M., 2012. Dietary effects of garlic (*Allium sativum*) on haemato-immunological parameters survival, growth, and disease resistance against *Vibrio harveyi* infection in Asian sea bass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*, 364-365, 6–12
 36. Tavares-Dias, M., Moraes, F.R., 2007. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. *Journal of Fish Biology*, 71, 383–388.
 37. Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Sokmen, A., 2005. In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of five *Allium* species from Turkey. *Food Chemistry*, 92, 89–92.
 38. Teyssier, C., Amiotb, M.J., Mondyc, N., Augerc, J., Kahaned, R., Siessa, M.H., 2001. Effect of onion consumption by rats on hepatic drug-metabolizing enzymes. *Food and Chemical Toxicology*, 39, 981–987.
 39. Yamamoto, Y., Oue, E., 2006. Antihypertensive effect of quercetin in rats fed with a high-fat high-sucrose diet. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70, 933–939.
 40. Yeh, Y.Y., Lin, R.I., Yeh, S.M., Evens, S., 1997. Garlic reduced plasma cholesterol in hypercholesterolemic men maintaining habitual diets. In H. Ohigashi, et al. (Eds.), *Food factors for cancer prevention*. Tokyo: Springer-Verlag.
 41. Yilmaz, E., Genc, M.A., Cek, S., Mazlum, Y., Genc, E., 2006. Effects of orally administered *Ferula coskunii* (Apiaceae) on growth, body composition and histology of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5, 1236–1238.
- aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433, 50–61.
26. Sahoo, P.K., 2006. Immuno competent organs in teleosts. In: Swain, P. Sahoo, P.K. & Ayyappan, S. (Eds) *Fish & shellfish immunology*, Navendra Publishing House, Dehli. pp. 1–12.
 27. Sakai, M., 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 172, 63–92.
 28. Scalbert, A., Williamson, G., 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, 130, 2073–2085.
 29. Shalaby, A.M., Khattab, Y.A., Abdel Rahman, A.M., 2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Disease*, 12, 172–201.
 30. Sitja-Bobadilla, A., Pena-Llopis, S., Gomez-Requeni, P., Medale, F., Kaushik, S., Perez-Sanchez, J., 2005. Effect of fish meal replacement by plant protein sources on non-specific defence mechanisms and oxidative stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 249, 387–400.
 31. Siwicki, A.K., Anderson, D.P., 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. *Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods*, Olsztyn, Poland. 105-112.
 32. Srinivasan, K., 2005. Plants food in the management of diabetes mellitus: spices as beneficial antidiabetic food adjuncts. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 56, 399–414.
 33. Sundararajan, R., Ahmed Haja, N., Venkatesan, K., Mmukherjee, K., Padashaha, B., Bandyopadhyay, A., Mukherjee, P.K., 2006. *Cytisus scoparius* a natural antioxidant.