اثرعصاره متانولی خارخاسک (*Tribulus terrestris*) بر آنزیم‌های کبد و گوارشی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus* (Linnaeus 1758

پریا اکبری[1*]، سیمین دلیران[1]، زهرا امینی خویی[2]

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

۲- مرکز تحقیقات آب‌های دور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، چابهار، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱/۱۹

چکیده

در مقایسه با داروهای شیمیایی، گیاهان دارویی دارای عوامل و ترکیبات موثری بر تسریع روند جذب دستگاه گوارش، بهبود اثرات درمانی و کاهش اثرات جانبی و سمیت داروها می‌باشند. تحقیق حاضر به‌منظوز بررسی اثر عصاره متانولی خارخاسک (*Tribulus terrestris*) بر آنزیم‌های کبد و گوارشی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون ماهی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) به‌مدت ۶۰ روز صورت گرفت. ۲۴۰ قطعه بچه‌ماهی کفال خاکستری با میانگین وزنی ۰/۴۳±۸/۴۲ گرم و میانگین طولی ۰/۴۰± ۶/۴۵ سانتی‌متر در یک طرح کاملا تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار (با تعداد ۲۰ قطعه) که به‌ترتیب شامل ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم عصاره متانولی خارخاسک در هر کیلوگرم غذا بود مورد آزمایش قرار گرفتند. در پایان آزمایش، کمترین میزان کلسترول و تری‌گلیسرید و بیشترین میزان آلبومین سرم خون در تیمار ۳و۴ مشاهده شد ($P<0/05$). کمترین میزان گلوکز و بیشترین میزان پروتئین و گلوبولین در تیمار ۴ مشاهده شد و بین تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P<0/05$). بیشترین میزان فعالیت آنزیم آمیلاز، پروتئاز و کمترین فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در تیمار ۴ مشاهده شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم آمیلاز و کمترین میزان فعالیت آنزیم‌های اسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینو ترانسفراز نیز در تیمار ۳و۴ مشاهده شد اما بین تیمار ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($P>0/05$). در کل، نتایج نشان داد که استفاده از ۱/۵ گرم عصاره متانولی خارخاسک در هر کیلوگرم اثرات مثبتی بر فعالیت آنزیم‌هایی گوارشی و کبد و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی کفال خاکستری دارد.

کلمات کلیدی: ماهی کفال خاکستری، آنزیم گوارشی،آمینوترانسفراز، عصاره خارخاسک، شاخص‌های بیوشیمیایی خون.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). paria.akbary@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]

مقدمه

مدیریت تغذیه ماهی‌ها یکی از عوامل موثر در ایجاد مقاومت آن‌ها در برابر بیماری‌ها می‌باشد، در واقع با رژیم مناسب نه تنها وضعیت سلامتی آن‌ها تضمین می‌شود بلکه احتمال بیماری در آن‌ها نیز کاهش می‌یابد. و رابطه مثبتی بین افزایش مقاومت بیماری با نرخ رشد و بقاء وجود دارد. استفاده از افزودنی‌های گیاهی در آبزی‌پروری یکی از روش‌های ارزان‌تر و ایمن‌تر از جنبه مسائل زیست محیطی در مقایسه با با داروهای شیمیایی است. گیاهان دارویی دارای ترکیبات و مواد موثره‌ای هستند که منجر به تسریع و تسهیل عمل جذب روده، بهبود اثرات درمانی و کاهش اثرات جانبی و سمیت داروهای شیمیایی می‌گردند (Platel *et al*., 2002). اگرچه تحقیقات انجام شده روی حیوانات آزمایشگاهی، گویای اثرات مثبتی از کاربرد گیاهان دارویی در درمان و جلوگیری بیماری در ماهیان است (Sivaram *et al*., 2004; Rao *et al*., 2006; Divyagnanevwari *et al*., 2007; Nafisi Bahabadi *et al*., 2014) اما اثرات متناقض برخی گیاهان، استفاده از آن‌ها را در مقیاس تجاری کاهش داده است. کمبود اطلاعات در زمینه اثرات بیولوژیکی ترکیبات موجود در عصاره گیاهان دارویی بر ویژگی‌های فردی گونه‌های مختلف ماهی، در کاربرد این ترکیبات مشکل اساسی ایجاد نموده است (Banaee, 2010; Nafisi Bahabadi *et al*., 2014). بنابراین، مطالعه در زمینه اثرات مشتق‌های گیاهی و فارماکولوژیکی آن جهت سلامت ماهی می‌تواند منجر به افزایش دانش ما در زمینه استفاده از ترکیبات موثر برای درمان بیماری گردد (Nafisi Bahabadi *et al*., 2014).

خارخاسک با نام علمی (*Tribulus terrestris*) از خانواده گیاهان زیگوفیلاسیا (Zygophyllaceae) می‌باشد. از نظر ماهیتی در دمای گرم و نواحی گرمسیری در اروپای جنوبی، جنوب آسیا، سراسر آفریقا و استرالیا رشد می‌نماید (Bucci, 2000). قسمت‌های مختلف این گیاه حاوی مواد شیمیایی از جمله فلانوئیدها، فلانول گلیکوزید، استروئید، ساپونین و آلکالوئیدها می‌باشند که از نظر پزشکی حائز اهمیت هستند (Chhatre *et al*., 2014). اثرات مفید ترکیبات زیست فعال این گیاه، تحریک اشتهاء، کارایی غذا ماهی تیلاپیای نیل (*Oreochromis niloticus*) (Gültepe *et al*., 2014) و ماهی سیچلیده (*Cichlasoma nigrofasciatum*) (Yeganeh *et al*., 2018)، بهبود ترشح آنزیم‌های گوارشی، پاسخ ایمنی ماهی تیلاپیای نیل (Gültepe *et al*., 2014)، آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد درد ، ضد التهاب، ضد سرطان، ضد انعقادی، ضد تومور، حمایت کبد، افزایش مقاومت عضلانی می‌باشد (Chhatre *et al*., 2014).

کبد بزرگترین غده در بدن مهره داران و بخشی برای متابولیسم شدید است. بیماری‌های کبد یکی از مشکلات جدی است که به‌وسیله مواد شیمیایی سمی به‌وجود می‌آید و علی رغم پیشرفت‌های عظیم در داروهای آللوپاتیک، هیچ داروی حفاظت کبدی موثری در دسترس نمی‌باشد (Kavitha *et al*., 2011). گیاهان دارویی نقش حیاتی را در مدیریت بیماری‌های کبدی بازی می‌کنند (Kavitha *et al*., 2011).آمینوترنسفرازها (آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز) مارکرهای آنزیمی کبدی قابل اعتمادی هستند که در تشخیص آسیب‌های کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Kumer *et al*., 2004). تحت

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]

شرایط عادی این آنزیم‌ها درون سلول‌های کبدی وجود دارند اما زمانی که کبدی آسیب می‌بینند این آنزیم‌ها وارد جریان خون می‌شوند (Ahmed and Khater 2001; Kumar *et al*., 2004). گرچه آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز هر دو در ضایعات کبدی افزایش می‌یابند اما آلانین آمینوترانسفراز آنزیم اختصاصی‌تر و مشخص کننده‌تری می‌باشد و افزایش آسپارتات آمینوترانسفراز در اکثر مواقع به جز ناراحتی‌های پارانشیمال کبد قابل ملاحظه است. همچنین هنگامی‌که جریان صفرا کم شود و یا مجرای صفرا بسته شود آنزیم‌های خاصی در کبد زیاد می‌شوند یکی از این آنزیم‌ها آلکالین فسفاتاز یا فسفاتاز قلیایی است. مشکلات جریان صفرا می‌تواند به‌علت مشکل در کبد، کیسه صفرا یا لوله‌های اتصال به آن‌ها باشد بنابراین افزایش غلظت آنزیم مذکور معمولا به‌این معنی است که کبد آسیب دیده است (Hosseini and Shalaee, 2013).

تاکنون تحقیقات اندکی در زمینه اثر عصاره خارخاسک بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون در ماهی تیلاپیای نیل (Gültepe *et al*., 2014)، آنزیم‌های کبد در ماهی تیلاپیایی موزامبیکا (*O. mossambicus*) (Kavitha *et al*., 2011) و آنزیم‌های گوارشی در جوجه گوشتی (Sahin and Duru, 2010) صورت گرفته است. به‌عنوان مثال، Gültepe و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف عصاره خارخاسک (۰، ۲۰۰، ۴۰۰و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا) منجر به افزایش معنی‌دار سطح گلوکز، گلوبولین و کاهش معنی‌دار کلسترول در ماهی تیلاپیای نیل شد و بر روی میزان آلبومین، پروتئین تام و تری-گلیسیرید تاثیر معنی‌داری نداشت و در پایان استفاده از غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک بر کیلوگرم غذا به‌منظور بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی، ایمنی و هماتولوژی ماهی تیلاپیای نیل توصیه شد. همچنین Kavitha و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که استفاده از ۲۵۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک بر کیلوگرم غذا منجر به تعدیل و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و آنزیم‌های کبدی از جمله آلکالین فسفاتاز، اسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در مقابل سمیت استامینوفن در کبد ماهی تیلاپیای موزامبیکا شد.

در بین ماهیان دریایی، گونه ی کفال خاکستری (*Mugil cephalus*) علاوه بر اهمیت زیست محیطی، از نظر اقتصادی نیز حائز اهمیت فراوان می‌باشد .این ماهی به عنوان یک گونه ی تجاری وپرورشی در مزارع پرورشی وارد و مورد توجه واقع گردیده است. از طرفی، به‌کارگیری روش‌ها و آلات صید مخرب و آلودگی آب‌ها، بقای نسل این ماهی با ارزش را به شدت به‌خطر انداخته است. لذا انجام مطالعاتی که به-نحوی دوام بقای این ماهی و ماهیان مشابه را به‌دنبال داشته باشد ضروری به‌نظر می‌رسد (نگهداری جعفر بیگی، ۱۳۹۴).

از آن‌جایی‌که مطالعات اندکی در خصوص اثر عصاره خارخاسک روی شاخص‌های‌های بیوشیمیایی و آنزیم‌های کبدی ماهیان به‌عنوان شاخص‌های مهم در بررسی وضعیت سلامت و ایمنی ماهی صورت گرفته است (Akrami *et al*., 2015; Kavitha *et al*., 2011) و از طرف دیگر مطالعه‌ای در خصوص نقش غصاره گیاه خارخاسک بر فعالیت آنزیم‌های گوارش به‌عنوان شاخص موثر در کارایی قابلیت هضم و بررسی وضعیت تغذیه ماهی (Citarasu, 2010) انجام نشده است.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]

لذا این تحقیق با هدف بررسی تاثیر عصاره الکلی گیاه خارخاسک بر بهبود وضعیت سلامتی ماهی به بررسی فعالیت آنزیم‌های کبدی (اسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز) و گوارشی (آمیلاز، لیپاز و پروتئاز) و برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون (گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید، پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین) ماهی کفال خاکستری (*M. cephalus*) می‌پردازد

مواد و روش‌ها

در آذرماه۱۳۹۶، ۲۴۰ قطعه ماهی کفال خاکستری با میانگین وزنی ۰/۴۳± ۸/۴۲ گرم و میانگین طولی ۰/۴۰ ±۶/۴۵ سانتی‌متر از مرکز تکثیر میگوی دکتر اژدری واقع در اطراف شهرستان کنارک تهیه و به مرکز تحقیقات شیلات آب‌های دور چابهار انتقال داده شد. پیش از شروع آزمایش، ماهی‌ها به‌مدت دو هفته با در دو مخزن ۳۰۰ لیتری سازگار شدند و طی این مدت با استفاده از جیره تجاری (۳۹ درصد پروتئین، ۷ درصد چربی، ۸ درصد خاکستر و ۵ درصد رطوبت) با سایز ۱/۲ میلی‌متر ساخت شرکت هورراش تولید غذای میگو و آبزیان بوشهر) به میزان ۵ درصد وزن بدن طی دو مرحله (ساعت ۹ و ۱۷) تغذیه شدند.

گیاه خارخاسک، پس از جمع‌آوری از اطراف شهرستان شیراز، به تایید اداره منابع طبیعی استان فارس رسید. سپس بوته‌ها و سر شاخه‌های آن‌ها در سایه خشک و توسط دستگاه آسیاب کاملا به‌حالت پودر تبدیل شد. مقدار ۵۰ گرم از پودر حاصل شده با ۴۰۰ سی سی الکل متانول ۹۶ درصد مخلوط گردید و با دستگاه سوکسله عصاره‌گیری انجام شد. به‌منظور حذف حلال، عصاره‌های حاصل در دستگاه روتاری تحت عملیات تقطیر در خلا قرار گرفته از خلا ۲۵ میلی‌متر جیوه در دمای ۵۵-۵۰ درجه سانتی‌گراد استفاده و با گاز ازت باقی‌مانده حلال حذف شد و عصاره‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف در شیشه های تیره نگهداری شدند (Harikrishnman و همکاران، ۲۰۰۳).

پس از دو هفته سازگاری، آزمایش در قالب یک طرح کاملا تصادفی با ۴ تیمار به‌همراه ۳ تکرار، در مجموع ۱۲ مخزن و ۲۰ قطعه ماهی در هر مخزن در سالن مرکز انجام گرفت. بر این اساس تیمار ۱ شامل گروه شاهد بود و ماهی‌های این تیمار با جیره رشد (شرکت هوورراش بوشهر) تغذیه شدند. بقیه تیمارها به‌ترتیب با ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم عصاره خارخاسک در هر کیلوگرم غذا تغذیه شدند (Ghosal *et al*., 2015). در طول دوره آزمایش شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم شد و همچنین ماهیان در دوره پرورش به میزان ۵ درصد وزن بدن با جیره‌های آماده شده تغذیه شدند. طی دوره آزمایش پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شدند. به‌طوری‌که دمای آب ۰/۷۸±۲۸/۴۵ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن محلول ۰/۹۲±۸/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر و pH آب ۰/۶±۷/۹ بود. تعویض آب به‌صورت روزانه (۳۰ درصد) و هوادهی از یک پمپ مرکزی با استفاده از سنگ هوادهی انجام شد. ماهی‌ها با سطوح ۰/۰،۵، ۱، و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه خارخاسک تغذیه شده و در طی دوره ۶۰ روزه مورد پرورش قرار گرفتند. سپس سطوح مشخص عصاره گیاه، پس از مشخص نمودن مقدار غذا برای یک دوره ۶۰ روزه، در آب مقطر حل و با اسپری‌کننده های جداگانه به سطح غذا اسپری گردید پس از ۴۸ ساعت

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]

جیره های خشک جمع‌آوری و در نایلون‌های مجزا در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. تیمار شاهد تنها با آب مقطر اسپری شد (Ghosal *et al.*, 2015). در پایان دوره آزمایش (روز ۶۰)، ۹ ماهی از هر تیمار بعد از ۲۴ ساعت قطع غذا (به‌منظور کاهش استرس و خالی شدن دستگاه گوارش) (Akrami *et al.*, 2015) به‌صورت تصادفی صید و پس از بیهوش نمودن با پودر گل میخک (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، از قلب آن‌ها با استفاده از سرنگ انسولین خون‌گیری شد (Nafisi Bahabadi *et al.*, 2014). سپس به‌منظور تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی و گوارشی، ماهیان سریعاً در مجاورت یخ (به‌منظور به‌حداقل رساندن تغییر فعالیت آنزیمی) کالبدشکافی آن‌ها صورت گرفت و روده و کبد آن‌ها با دقت جدا و روده در محور طولی با دقت بریده شد و محتویات داخل روده تخلیه و سپس با آب مقطر به‌خوبی شسته شد (Chong *et al.*,2002). نمونه‌های کبد و روده بلافاصله در شرایط انجماد در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

به‌منظور تعیین میزان آنزیم‌های کبدی و گوارشی، نمونه‌های کبد و روده از شرایط انجماد خارج و وزن گردیدند. روده بعد با نسبت وزنی به حجمی (w/v) ۱ به ۵ با کلرید سدیم ۰/۲ مولار و کبد هر ماهی درون یک لوله فالکون که قبلا استریل شده بودند قرار داده شدند و به نسبت وزنی به حجمی ۱۰ برابر (۱/۱۰) به آن‌ها محلول بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار، KCL ۱۰۰ میلی‌مولار و EDTA یک میلی‌مولار با PH: 7/4 اضافه شد. سپس توسط یک دستگاه یکنواخت‌کننده (هموژنایزر) (مدلUP200S،شرکت Hielscher آلمان) به‌خوبی یکنواخت شدند. جهت جداسازی عصاره حاوی آنزیم مخلوط‌های یکنواخت شده روده در سانتریفیوژ با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در هر دقیقه به‌مدت ۲۰ دقیقه و کبد با سرعت ۱۰۰۰۰ ذور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند (Gawlica *et al.*, 2000). سپس محلول رویی در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری (با سه تکرار برای هر تیمار) به‌منظور سنجش آنزیمی جمع‌آوری شد. از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون تهران و دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل DR600، ساخت HACH آمریکا) برای سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی و کبدی استفاده شد.

میزان فعالیت آنزیم آمیلاز بر اساس روش Natalia و همکاران (۲۰۰۴) در طول موج ۵۴۰ نانومتر، میزان فعالیت آنزیم پروتئاز به روش King (۱۹۷۲) طول موج ۴۶۰ نانومتر و میزان فعالیت آنزیم لیپاز به‌روش Furne و همکاران (۲۰۰۵) در طول موج ۴۸۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفتند. فعالیت آنزیم‌ها بر اساس واحد بر میلی‌گرم پروتئین با سه تکرار برای هر نمونه محاسبه شدند.

سطح فعالیت آنزیم‌های اسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرم بر اساس مقدار مصرف NADPH و تبدیل آن به NAD^+ در طول موج ۵۰۵ نانومتر و آلکالین فسفاتاز بر اساس تبدیل نیتروفنیل فسفات به نیتروفنول و فسفات و در طول موج ۴۱۰ نانومتر تعیین و بر اساس جذب نوری OD و فرمول ارائه شده در دستورالعمل کیت‌ها محاسبه گردید (Liu *et al.*, 2016).

پس از خون‌گیری از قلب ماهی‌ها، خون به‌درون میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری ریخته شد و پس از سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه، سرم آن تهیه و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]

انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی نگهداری گردید (Nafisi Bahabadi *et al.*, 2014). از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون تهران و دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل DR600، ساخت HACH آمریکا) برای سنجش شاخص های بیوشیمیایی سرم خون استفاده شد. سنجش کلسترول به روش کلسترول اکسیداز (Burtis and Ashwood, 1994) در طول موج ۵۱۰ نانومتر، تری‌گلیسرید توسط آنزیم لیپاز، گلیسرول کیناز و پر اکسیداز (Burtis and Ashwood,1994) در طول موج ۵۱۰ نانومتر،گلوکز به‌روش واکنش پراکسیداز- اکسیداز گلوگز(Trinder,1969) و در طول موج ۵۰۰ نانومتر، پروتئین تام به‌روش بیوره در طول موج ۵۴۰ نانومتر، آلبومین به‌روش برومو‌کرزول سبز (Wooton, 1964) در طول موج ۶۳۰ نانومتر و از کسر پروتئین تام و آلبومین گلوبولین محاسبه شد (Kumar *et al.*, 2005). نسبت آلبومین به گلوبولین از تقسیم آلبومین بر گلوبولین محاسبه شد (Sahoo *et al.*, 1999).

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌روش آنالیز واریانس یک طرفه (one way analysis of variance ANOVA) انجام گرفت نرمال بودن داده‌ها بر اساس آزمون کالموگراف اسمیرنوف با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۹ و جهت مقایسه میانگین بین تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح معنی‌دار ۵ درصد استفاده شد. و جهت محاسبات آماری از نرم افزار Excel ویرایش ۲۰۱۰ استفاده شد. مدل آماری طرح به‌قرار زیر است

$$Yij = \mu + Tij + £ij$$

Yij مقدار صفت اندازه‌گیری شده، μ میانگین صفت در جامعه مورد نظر،Tij اثر سطوح مختلف عصاره خارخاسک و£ij اثر خطای آزمایش

نتایج

فعالیت آنزیم‌های کبدی

با افزایش غلظت عصاره خارخاسک، میزان فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). در حالی‌که تیمار ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری را میزان فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز با یکدیگر نشان ندادند (P>۰/۰۵) (جدول ۱). کمترین میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در تیمار ۴ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول ۱).

جدول۱: تغییرات میانگین میزان فعالیت آنزیم‌های کبدی ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز ۶۰)

میزان فعالیت آنزیم‌ها (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	تیمار			
	۱	۲	۳	۴
اسپارتات آمینوترانسفراز(ASP)	۷/۶۶±۱/۵۷^{a}	۶/۵۶±۱/۳۷^{b}	۵/۹۰±۱/۱۰^{c}	۶/۶۸±۰/۹۸^{c}
آلانین آمینو ترانسفراز(ALT)	۴۸/۸۳±۱/۲۵^{a}	۳۷/۹۳±۱/۹۲^{b}	۳۶/۳۶±۳/۵۵^{bc}	۳۴/۹۰±۲/۱۷^{c}
آلکالین فسفاتاز (ALP)	۵۱۵±۱۵^{a}	۴۸۱/۳۳±۳۳/۲۱^{b}	۳۰۹/۶۶±۲۵/۵۷^{c}	۲۰۵/۳۳±۲۳/۰۵^{d}

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵). تیمار۱ تا ۴ به‌ترتیب حاوی ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم عصاره گیاه خارخاسک بر کیلوگرم غذا است.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]

فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی

اضافه نمودن عصاره گیاه خارخاسک به جیره غذایی با غلظت‌های مختلف منجر به افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم پروتئاز و آمیلازدر مقایسه با تیمار شاهد شد (P<۰/۰۵). بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آمیلاز و پروتئاز در روده ماهی کفال خاکستری تغذیه شده با ۱/۵گرم عصاره گیاه خارخاسک در هر کیلوگرم غذا مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵) (جدول ۲). درحالی‌که بیشترین میزان فعالیت آنزیم لیپازدر تیمار ۳ و ۴ مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را با یکدیگر نشان ندادند (P>۰/۰۵) (جدول ۲).

جدول۲: تغییرات میانگین فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف در پایان دوره آزمایش (روز ۶۰)

فعالیت آنزیم‌ها (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	تیمار			
	۱	۲	۳	۴
لیپاز	۳/۲۹±۰/۱۳^{c}	۴/۱۱±۰/۲۲^{b}	۵/۰۴±۰/۲۴^{a}	۵/۱۰±۰/۱۰^{a}
پروتئاز	۱۹۹/۶۶±۱۰/۵۰^{c}	۲۴۲/۴۵±۶/۴۲^{b}	۲۴۷/۶۶±۲/۵۱^{b}	۳۱۵/۳۳±۱۲/۶۶^{a}
آمیلاز	۴۹۶/۶۶±۵۲/۸۲^{c}	۶۸۶±۱۳/۰۷^{b}	۷۳۵/۶۶±۴۷/۶۳^{b}	۹۳۵/۳۳±۱۷/۷۵^{a}

وجود حروف غیرهمسان در هر ردیف نشانه اختلاف معنی‌دار است (P<۰/۰۵). تیمار۱ تا ۴ به‌ترتیب حاوی ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم عصاره گیاه خارخاسک بر کیلوگرم غذا است.

شاخص‌های بیوشیمیایی خون

بیشترین میزان پروتئین تام و گلوبولین و کمترین میزان گلوکز در سرم خون در تیمار ۴ مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). بیشترین میزان آلبومین و کمترین میزان کلسترول و تری‌گلیسیرید در تیمار ۳ و ۴ مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری را از این نظر در مقایسه با تیمار ۲ و شاهد نشان دادند (P<۰/۰۵) (جدول ۳).

جدول۳: تغییرات میانگین (میانگین± خطای معیار) شاخص‌های بیوشیمیایی سرم خون ماهی کفال خاکستری در تیمارهای مختلف درپایان دوره آزمایش

	تیمار			
	۱	۲	۳	۴
پروتئین تام (گرم بر دسی‌لیتر)	۴/۵۶±۰/۰۲^{c}	۴/۵۹±۰/۱۸^{c}	۶/۶۹±۰/۴۵^{b}	۶/۸۰±۰/۳۳^{a}
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۱۶/۳۳±۱۵/۵۶^{a}	۹۹/۳۲±۱۰/۰۶^{ab}	۱۰۷±۳۸/۱۸^{ab}	۸۹/۶۶±۹/۰۱^{b}
کلسترول(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۲/۵۳±۱/۰۸^{a}	۹/۹۳±۱/۰۱^{b}	۱۰±۰/۸۳^{b}	۸/۱۳±۱/۴۴^{c}
تری گلیسیرید (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	۱۷۹/۶۶±۱۱/۵۲^{a}	۱۳۸/۶۶±۱۳/۲۱^{b}	۱۴۱/۵۰±۱۲/۵۰^{b}	۱۳۲/۳۳±۱۶/۴۲^{b}
آلبومین (گرم بر دسی لیتر)	۳/۰۱±۰/۱۹^{c}	۳/۰۷±۰/۳۲^{c}	۵/۱۷±۰/۱۲^{b}	۵/۲۰±۰/۵۴^{a}
گلوبولین (گرم بر دسی لیتر)	۱/۵۵±۰/۱۹^{a}	۵/۵۱±۰/۱۲^{a}	۱/۵۲±۰/۲۵^{a}	۱/۵۴±۰/۳۲^{a}

حروف نامشابه در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای آزمایشی است (P<۰/۰۵). میانگین داده‌ها بر اساس واریانس یک‌طرفه مورد مقایسه قرار گرفتند. تیمار۱ تا ۴ به‌ترتیب حاوی ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم عصاره گیاه خارخاسک بر کیلوگرم غذا است.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده ازسطوح مختلف عصاره خارخاسک منجر به کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آلکالین فسفاتاز، میزان آلکالین فسفاتاز، اسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در کبد ماهی کفال خاکستری شد و کمترین سطوح آنزیم‌های کبدی اسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در تیمار های حاوی ۱و ۱/۵گرم عصاره گیاه خارخاسک بر کیلوگرم غذا و کمترین میزان آلکالین فسفاتاز در تیمار ۱/۵گرم عصاره گیاه خارخاسک بر کیلوگرم غذا مشاهده شد. می‌توان گفت که عصاره گیاهی مذکور در غلظت‌های مورد استفاده، هرچند بایستی مطالعات هیستوپاتولویکی از بافت کبد جهت آزمایش تکمیلی نیز صورت گیرد فاقد مواد آسیب رسان به بافت کبد می‌باشد (Talpur, 2014). Kavitha و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی فعالیت حفاظت کبدی عصاره خارخاسک بر علیه سمیت استامینوفن در ماهی تیلاپیای موزامبیکا نشان دادند که در مقایسه با بافت کلیه و آبشش، بافت کبد حساسیت بیشتری نسبت به سمیت استامینوفن نشان داد و میزان آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، اسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز کبد در ماهیان تیمارشده با استامینوفن افزایش یافت در حالی‌که استفاده از ۲۵۰ میلی‌گرم عصاره خارخاسک بر کیلوگرم غذا در رژیم غذایی ماهی تیلاپیای موزامبیکا منجر به کاهش و تعدیل میزان فعالیت آنزیم‌های کبد شدند. که با نتایج حاصل از نظر تاثیر عصاره خارخاسک بر تعدیل فعالیت آنزیم‌های کبدی هم‌خوانی داشت. بسیاری از مطالعات فیتوشیمیایی حضور ترکیب فلانوئیدی در عصاره اتانولی خارخاسک را تائید می‌نمایند که دلیل فعالیت حفاظتی کبد و تعدیل آنزیم‌های کبدی می‌باشند (Wegner and Fintelmann, 1999; Kavitha *et al*., 2011)، لذا می‌توان گفت که عصاره خارخاسک با داشتن ترکیبات فعال طبیعی ازجمله، فلانوئیدها، تری-ترپنوئیدها و استروئیدها که دارای خواص آنتی اکسیدانی هستند می‌تواند منجر به نفوذپذیری سلولی، توانایی سرکوب استرس اکسیداتیو تعدیل آنزیم‌های کبدی گردد (Chhatre *et al*., 2014; Kavitha *et al*., 2011).

گزارش‌های بسیاری اثر گیاهان را به‌عنوان اشتها-آور و محرک رشد در گونه‌های آبزی اثبات کرده‌اند (Citarasu, 2010). گیاهان در فعالیت آغازی در تغذیه به‌عنوان چاشنی عمل کرده در نتیجه در الگوهای تغذیه-ای ترشحات مایع گوارشی و کل غذای خورده شده موثر هستند. تحریک ترشحات گوارشی شامل بزاق دهان، آنزیم‌های گوارشی، صفرا و موکوس را شامل می‌شود که به‌عنوان یک عمل مهم افزودنی‌های غذایی به‌حساب می‌آید. از جهت دیگر بوی عناصر غذایی رشد را افزایش می‌دهد و به‌عنوان مکمل غذایی برای تغذیه بیشتر ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد (صارمی و همکاران، ۱۳۹۷؛ نصرتی موفق و همکاران، ۱۳۹۸). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از عصاره خارخاسک در جیره غذایی ماهی کفال خاکستری منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، پروتئاز و لیپاز در مقایسه با شاهد شد و بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و امیلاز در تیمار حاوی ۱/۵ گرم عصاره خارخاسک بر کیلوگرم غذا مشاهده شد و بیشترین میزان فعالیت آنزیم لیپاز در تیمار حاوی ۱ و ۱/۵ گرم عصاره خارخاسک بر کیلوگرم غذا مشاهده شد. دلیل

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]

آن را می‌توان وجود ترکیب-های طبیعی از جمله، آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، ساپوین‌ها و فلانووئیدها دانست که محرک گوارش و افزایش وزن بوده و به عنوان تحریک کننده ایمنی شناخته شده‌اند (Harikrishnan *et al*., 2010 و Fereidouni). همکاران (۲۰۱۵) با بررسی اثر عصاره سیر (*Allium sativum L.*) بر نرخ بقاء و پارامترهای بیوشیمیایی و آنزیم‌های گوارشی لارو ماهی کفال خاکستری نشان دادند بیشترین میزان سطوح آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز و پروتئاز مربوط به جیره حاوی ۳ درصد عصاره سیر بود که اختلاف معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و سایر تیمارهای آزمایشی داشت. همچنین نگهداری جعفر بیگی (۱۳۹۴) گزارش کرد که استفاده از ۲۰ گرم بر کیلوگرم پودر زنجبیل و رازیانه در جیره غذایی ماهی کفال خاکستری منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم-های گوارشی شد که با نتایج حاصل از این تحقیق هم‌خوانی داشتند. هم‌چنین ثابت شده است که عصاره‌های گیاهان دارویی، ادویه‌های مختلف و ترکیباتی نظیر نوکلئوتیدها، با تاثیر بر میکروفلور روده و هم‌چنین تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی باعث افزایش هضم و جذب پروتئین‌ها، کربوهیدات‌ها و چربی‌ها می‌شوند (Lee *et al*., 2012; Tahmasebi Khoyani *et al*., 2008).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که استفاده از سطوح مختلف عصاره خارخاسک منجر به کاهش معنی‌دار میزان گلوکز، کلسترول و تری‌گلیسرید شد. به‌طوری‌که کمترین میزان کلسترول و تری‌گلیسرید در تیمار حاوی ۱و ۱/۵ گرم عصاره خارخاسک بر کیلوگرم غذا و کمترین میزان گلوکز در تیمار حاوی ۱/۵گرم عصاره خارخاسک بر کیلوگرم غذا مشاهده شد.Gültepe و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف عصاره خارخاسک (۰، ۲۰۰، ۴۰۰و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا) منجر به افزایش معنی‌دار گلوکز و کاهش معنی‌دار کلسترول در ماهی تیلاپیای نیل شد همچنین بر میزان تری‌گلیسرید سرم خون تیلاپیای نیل تاثیر معنی‌داری نداشت که تنها از نظر میزان کلسترول با تحقیق حاضر هم‌خوانی داشت. دلیل عدم مشابهت در نتایج مربوط به گلوکز و تری-گلیسرید را می‌توان به گونه‌ماهی، کیفیت آب، شرایط پرورش، نوع و مقدار ترکیبات زیست فعال گیاه دارویی مختلف نسبت داد (Akrami *et al*., 2015). می‌توان گفت که دلیل افزایش سطح گلوکز خون یا هیپرگلیسمی نشان دهنده بروز اختلال در روند متابولیسم کربوهیدرات است که منجر به افزایش تجزیه گلیکوژن کبد و در نهایت افزایش گلوکز خون می-گردد (Banaee *et al*., 2011) Amin و همکاران (۲۰۰۶) و Lambo و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که با بررسی اثر عصاره خار خاسک در درمان بیماری دیابت موش نشان دادند که عصاره مذکور منجر به کاهش معنی‌دار گلوکز، تری گلیسرید و کلسترول سرم خون و افزایش معنی دار فعالیت آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز شد و در نهایت در مهار گلیکوژنزیز نقش داشت. هم‌چنین استفاده از عصاره خار مریم (*Silybum marianum*) منجر به کاهش معنی‌دار میزان گلوکز در سرم ماهی قزل آلای‌رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) شد (Banaee *et al*., 2011) که با تحقیق حاضر هم‌خوانی داشتند. می‌توان گفت که حضور ترکیبات فنلی در عصاره گیاه مذکور از سنتز اسیدهای چرب جلوگیری نموده و منجر به افزایش لیپاز لیپوپروتئین در عضله شده و فعالیت آن در

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]

بافت چربی کاهش یافته لذا تری‌گلیسیرید سرم خون به‌منظور تولید انرژی در عضله مصرف شده و در بافت چربی ذخیره نمی‌گردد (Khan *et al*., 2011). همچنین ساپونین موجود در عصاره خارخاسک دارای خاصیت هیپوگلیسمی می‌باشد و با سنتز گلیکوژن و سلامت کبد در ارتباط است (Ji *et al*., 2007).

پروتئین تام، گلوبولین و آلبومین سرم خون شاخص مهمی در کنترل و نظارت بر دوره بیماری، اختلالات سیستم ایمنی، اختلال در عملکرد کبد و اختلالات عملکر کلیه می‌باشند (Nafisi Bahabadi *et al*., 2014). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که استفاده از سطوح مختلف عصاره خارخاسک منجر به افزایش معنی‌دار میزان پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین سرم خون ماهی در مقایسه با گروه شاهد شد. بیشترین میزان گلوبولین و پروتئین تام سرم خون در تیمار حاوی ۱/۵ گرم عصاره خارخاسک بر کیلوگرم غذا و بیشترین میزان آلبومین در تیمار حاوی ۱و ۱/۵ گرم عصاره خارخاسک بر کیلوگرم غذا مشاهده شد. می‌توان گفت افزایش میزان آلبومین سرم خون با عصاره مذکور می‌تواند منجر به بهبود روند توزیع ترکیبات موثر این عصاره در خون گردد و افزایش گلوبولین سرم خون منجر به افزایش سطح گلوبولین‌های حامل (نوع آلفا و بتا) و گاما گلبولین ایمنی در سرم خون ماهی گردد (Banaee *et al*., 2011).Gültepe و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف عصاره خارخاسک (۰، ۲۰۰، ۴۰۰و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غذا) منجر به افزایش معنی‌دار سطح گلوبولین در ماهی تیلاپیای نیل شد و روی میزان آلبومین و پروتئین تام سرم خون ماهی تاثیر معنی‌داری نداشت که به استثنای گلوبولین، از نظر میزان آلبومین و پروتئین تام با تحقیق حاضر هم‌خوانی نداشت. دلیل مغایرت در نتایج، می‌تواند مربوط به گونه ماهی، غلظت عصاره گیاهی و نوع عصاره مورد استفاده باشد (Dadras *et al*., 2016). در حالی‌که استفاده از عصاره خار مریم (Banaee *et al*., 2011) و عصاره سرخارگل (*Echinacea purpurea*) (Oskoii *et al*., 2012) در جیره غذایی ماهی قزل آلای رنگین کمان منجر به افزایش معنی‌دار میزان گلوبولین، آلبومبن و پروتئین تام سرم خون ماهی قزل آلای رنگین کمان شد که با نتایج تحقیق حاضر، هم‌خوانی داشتند.

در کل نتایج حاصل از این تحقیق، نشان داد که با توجه به بررسی فعالیت آنزیم‌های کبد و گوارشی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی به نظر می‌رسد که سطح موثر عصاره گیاه خارخاسک در جیره غذایی ماهی کفال خاکستری، ۱/۵ گرم عصاره گیاه خارخاسک بر کیلوگرم غذا می‌باشد که می‌توان به‌منظور بهبود عملکرد هضم موادغذایی، سلامت کبد و تقویت سیستم ایمنی ماهی کفال خاکستری در جیره غذایی به‌کار برد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری ریاست و پرسنل محترم مرکز تحقیقات شیلات چابهار که امکانات این پژوهش رافراهم آوردند و کارشناسان محترم آزمایشگاه تخصصی پاتوبیولوژی صدف چابهار تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱- صارمی، ن.، موسوی، س. م.، ذاکری، م.، زنگویی، ن.، شهریاری، ع.، ۱۳۹۷. اثرات عصاره الکلی زیره

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]

سبز بر آنـزیم‌هـای گوارشـی و برخـی پـارامترهـای سرمی ماهی انگشت قد کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). نشریه توسعه آبـزی‌پـروری، ۱۲(۴)، ۵۱-۶۹.

۲- نصرتی موفق، ا.، امیر کلایی، ع.ک.، اورجـی، ح.، ۱۳۹۸. اثر تغذیه با ریز جلبک اسپیرولینا بـر رشـد، بازماندگی، کارایی، رنـگ‌پـذیری و هضـم‌پـذیری رنگدانـــه در مـــاهی اســـکار (*Astronotus ocellatus*). نشـریه توسـعه آبـزی‌پـروری، ۱۳(۳)، ۱۱۹-۱۳۳.

۳- نگهداری جعفر بیگی، ی.، ۱۳۹۴. عنوان اثر سطوح مختلف بیوهربـال (زنجبیـل *Zingiber officinale* Roscoe, 1807 و رازیانه *Foeniculum vulgare* Mill) روی شاخص‌های رشـد، ترکیبـات شـیمیایی لاشــه و آنــزیم‌هــای گوارشــی در مــاهی کفــال خاکستری (*Mugil cephalus* Linnaeus, 1758). پایان نامه کارشناسی ارشد گـروه شـیلات دانشـگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار. ۶۰ صفحه.

4- Akramia, R., Gharaeib, A., Razeghi Mansourc, M., Galeshi, A., 2015. Effects of dietary onion (*Allium cepa*) powder on growth, innate immune response and hematoe biochemical parameters of beluga (*Huso huso* Linnaeus, 1754) juvenile. Fish and Shellfish Immunology, 45 (2), 828-834.

5- Amin, A., Lotfy, M., Shafiullah, M., Adeghate, E., 2006. The protective effect of *Tribulus terrestris* in diabetes, Annals *of the* New York Academy *of* Sciences New York Academy of Sciences. 1084, 391‐401.

6- Banaee, M., Sureda, A., Mirvaghefi, A.R., Rafei, G.R., 2011. Effects of long-term silymarin oral supplementation on the blood biochemical profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish Physiology and Biochemistry, 37, 887-896.

7- Bucci, L. R., 2000. Selected herbals and human exercise erformance. The American Journal of Clinical Nutrition, 72(2), 624-636.

8- Burtis, C. A., Ashwood, E. R. 1994. Tietz Textbook of Clinical Chemistry (5thed.). Philadelphia. USA;W.B. Sunders Company: P. 560-568.

9- Chhatre, S., Nesari, T., Somani, G., Kanchan, D., Sathaye, S., 2014. Phytopharmacological overview of *Tribulus terrestris*. Pharmacognosy Reviews, 8(15), 45-52.

10- Chong, A.S.C., Hashim, R. M., Chow-Tang, L., Ali, A. B., 2002. Parrtial characterization and activities of protease from the digestiove tract of discus fish (*Symphysodon aequifasciata*). Aquaculture, 203 (3-4); 321-331.

11- Citarasu, T., 2010. Herbal biomedicines a new opportunity for aquaculture industry. Aquaculture International, 18(3), 403–414.

12- Dadras, H., Hayatbakhsh, M.R., Shelton, W.L., Golpour, A., 2016. Effects of dietary administration of Rose hip and Safflower on growth performance, haematological, biochemical parameters and innate immune response of Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Fish and Shellfish Immunology, 59, 109-114.

13- Divyagnaneswari, M., Christybapita, D., Dinakaran, M.R., 2007. Enhancement of nonspecific immunity and disease resistance in *Oreochromis mossambicus* by *Solanum trilobatum* leaf fractions. Fish and Shellfish Immunology, 23(2), 249-259.

14- Fereidouni, M. S., Akbary, P., Soltanian, S., 2015. Survival rate and biochemical parameters in *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758) larve fed garlic (*Allium sativum* l.) extract. American Journal of Molecular Biology, 5; 7-15.

15- Furne, M., Hidalgo, M.C., López, A., García-Gallego, M., Morales, A.E., Domenzain, A., Domezain, J., Sanz, A., 2005. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. Aquaculture, 250(1-2), 391-398.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]

16- Gawlicka, A., Parrent, B., Horn,M.H., Ross,N., Opstad,I., Torrissen, O.J., 2000. Activity of digestive enzyme in yolk- sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) indication of readiness for first feeding. Aquaculture, 184 (1-2), 304-314.
17- Ghosal, I., Mukherjee, D., Hancz, C., Bhusan, S., 2015. Efficacy of Basella alba and *Tribulus terrestris* extracts for production of monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus.* Journal of Applied Pharmaceutical Science, 5 (8), 152-158.
18- Gültepe, N., Acar, Ü., Kesbiç, O. S., Yılmaz, S., Yıldırım, Ö., Türker, A., 2014. Effects of dietary *Tribulus terrestris* ectract supplementation on growth, feed utilization, hematological, immunological, and biochemical variables of Nile tlapia *Oreochromis niloticus*. The Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh. 66, 1-8.
19- Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2010. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against *Aeromonas hydrophila*. Fish & shellfish immunology, 28(2), 354-361.
20- Hosseini S.M., Shalaee, M., 2013. Effect of Milk thistle seed on yield and quality parameters in laying hens eggs, Journal of Animal and Poultry Research, 2(1), 31-39.
21- Ji, S., Takaoka, O., Jeong, G., Lee, S., Ishumaru, K., Seoka, M., Takii, K., 2007. Dietary medicinal herbs improve growth and some non-specific immunity of red sea bream *Pagrus major*. Fishery Science, 73(1), 63-69.
22- Kavitha, P., Ramesh, R., G.Bupesh, G., Stalin, A., Subramanian, P., 2011. Hepatoprotective activity of *Tribulus terrestris* extract against acetaminophen-induced toxicity in a freshwater fish (*Oreochromis mossambicus*)". In Vitro Cellular and Developmental Biology-Animal, 47, 698-706.\
23- Khan, S., Kabir, H., Jalees, F., Asif, M., Naquvi, K.J., 2011. Antihyperlipidemic potential of fruits of *Tribulus terrestris* linn. International Journal of Biomedical Research, 2, 98-101.
24- King, J., 1972. Practical clinical enzymology. 2nd ed, London:the University of Michigan press;. P. 250-286
25- Kumar, S., Sahu, N. P., Pal, A. K., Choudhury, D,. Yengkokpam, S., Mukherjee, S. C., 2005. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *Labeo rohita* juveniles. Fish and Shellfish Immunology, 19(4), 331 -344.
26- Lamba, H.S., Bhargava, C.H., Thakur, M., Bhargava, S., 2011. α- glucosidase and aldose reductase inhibitory activity in vitro and antidiabetic activity in vivo of *Tribulus terrestris*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 3,270-272.
27- Lee, D.H., Ra, C.S., Song, Y.H., Sung, K.I., Kim, J.D., 2012. Effects of dietary garlic extract on growth, feed utilization and whole body composition of juvenile starlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*). Asian Australian Journal of Animal Science, 25, 577-583.
28- Liu, F., Shi, H., Guo, Q., Yu, Y., Wang, A., Lv, F., Shen, W., 2016. Effects of astaxanthin and emodin on the growth, stress resistance and disease resistance of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). Fish and Shellfish Immunology, 51; 125-135.
29- Nafisi Bahabadi, M., Banaee, M., Taghiyan, M., Nematdoust Haghi, B., 2014. Effects of dietary administration of yarrow extract on growth performance and blood biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). International Journal of Aquatic Biology, 2(5), 275-285.
30- Natalia, Y., Hashim, R., Ali, A., Chong, A., 2004. Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae). Aquaculture, 233(1-4); 305–320.
31- Oskoii, S.B., Kohyani, A.T., Parseh, A., Salati,A. P., Sadeghi, E., 2012. Effects of dietary administration of *Echinacea purpurea* on growth indices and biochemical and hematological indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. Fish Physiology and Biochemistry, 38(4), 1029 -1034.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]

S., Nematollahi, A., Mahmoudi, N., Pasha-Zanoosi, H., 2008. Effects of dietary nucleotide on growth indices and intestinal morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Marian Science and Technology, 1, 45-54.

39- Talpur, A.D., 2014. *Mentha piperita* (Peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immune response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) against *Vibrio harveyi* infection. Aquaculture, (420–421), 71–78.

40- Trinder, P., 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor Annual Clinical Biochemistry, 6, 24-27.

41- Wegner, T., Fintelmann, V., 1999. Flavonoids and bioactivity. Wein. Med.Wochem. Sihr, 149, 241–247.

42- Wootton, L. I. 1962. Micro-analysis in medical biochemistry in micrometer, 4th.ed. London: Churchill press; P. 264-267.

43- Yeganeh, S., Sotoudeh, A., Nosrati, A., Movaffagh, A., 2017. Effects of *Tribulus Terrestris* extract on growth and reproductive performance of male convict cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*).Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 17,1003-1007.

32- Platel, K., Rao, A., Saraswahi, G., Srinivasan, K., 2002. Digestive stimulant action of three Indian spice mixes in experimental rats. Nahrung. 46(6), 394-398.

33- Rao, Y.V., Das, B.K., Jyotyrmayee, 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(3), 263-273.

34- Şahin, A., Duru, M., 2010. Effects of *Tribulus terrestris* (*Puncture vine*) supplementation on performance and digestive system of broiler chicks. Journal of Agricultural Sciences, 16, 271-277.

35- Sahoo, P.K., Mohanty, J., Mukherjee, S.C., 1999. The three imuunomodulators on haemotological parameters and immunity level in rohu (*Labeo rohita*) fingerlings. Journal of Aquaculture Tropics, 14; 127–135.

36- Sivaram, V., Babu, M.M., Citarasu, T., Immanuel, G., Murugadass, S., Marian, M.P., 2004. Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. Aquaculture, 237(1-4), 9-20.

37- Syahidah, A., Saad, C.R., Daud, H.M., Abdelhadi, Y.M., 2015. Status and potential of herbal applications in aquaculture: A review. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 14(1), 27-44.

38- Tahmasebi-Kohyani, A., Keyvanshokooh,

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1398.13.4.7.4]