

اثرات عصاره الکلی زیره سبز بر آنزیم‌های گوارشی و برخی پارامترهای سرمی ماهی انگشت قد کپور معمولی *Cyprinus carpio*

نرگس صارمی^۱، سید محمد موسوی*^۱ محمد ذاکری^۱، نسیم زنگویی^۱، علی شهریاری^۲

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران، صندوق پستی: ۶۶۹

۲- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، صندوق پستی: ۱۴۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۱۷

چکیده

در این مطالعه اثرات سطوح مختلف عصاره اتانولی زیره سبز بر فعالیت برخی آنزیم‌های گوارشی و پارامترهای سرمی در ماهیان جوان کپور معمولی مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور ۱۵۰ قطعه ماهی (با میانگین وزنی ابتدایی $20/3 \pm 0/89$ گرم و وزن نهایی $26/34 \pm 0/35$ گرم) به طور تصادفی در ۱۵ تانک پلی اتیلنی ۳۰۰ لیتری، توزیع شدند. ۵ جیره غذایی با سطح پروتئین و انرژی یکسان دارای مقدار صفر، ۰/۵، ۱/۵ و ۲ درصد عصاره اتانولی زیره سبز تهیه شدند. ماهی‌ها ۳ بار در روز و به مدت ۸ هفته غذادهی شدند. در پایان دوره آزمایشی سطوح فعالیت آنزیم‌های گوارشی (آمیلاز، لیپاز و آلکالین فسفاتاز) و برخی از پارامترهای سرمی (پروتئین کل، آلبومین، گلوکز، کلسترول، HDL، LDL، تری‌گلیسیرید، کلسیم و فسفر) اندازه‌گیری گردید. براساس نتایج به دست آمده، افزودن سطوح مختلف عصاره الکلی زیره سبز به جیره غذایی ماهی جوان کپور معمولی فعالیت آنزیم‌های گوارشی (آمیلاز، لیپاز و آلکالین فسفاتاز) را در تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش داد ($P < 0/05$). آنالیزهای صورت گرفته کاهش معنی‌دار پروتئین کل، آلبومین، گلوکز و کلسترول سرم را در ماهی‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی عصاره زیره سبز نشان دادند ($P < 0/05$). همچنین افزودن عصاره الکلی زیره سبز به جیره غذایی ماهیان جوان کپور معمولی به طور معنی‌داری باعث افزایش سطوح فسفر سرم گردید ($P < 0/05$). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که جیره‌های غذایی حاوی عصاره زیره سبز به خصوص در غلظت‌های بالا می‌توانند فعالیت آنزیم‌های گوارشی و پارامترهای سرمی ماهیان جوان کپور معمولی را بهبود ببخشند. با توجه به رشد بهتر این تیمار، تیمار حاوی ۱/۵ درصد عصاره اتانولی زیره سبز به عنوان مناسب‌ترین سطح مکمل در جیره غذایی ماهیان جوان کپور معمولی پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: کپور معمولی، زیره سبز، آنزیم‌های گوارشی، پارامترهای سرمی.

مقدمه

آبی‌پروری به عنوان بخشی از صنعت تولید غذا دارای رشد سالانه ۸/۸٪ در سرتاسر جهان است (Harikrishnan *et al.*, 2011). اما همزمان با رشد این صنعت نگرانی‌ها در مورد اثرات زیست محیطی، آلودگی‌ها، سلامت مصرف‌کنندگان و منابع ماهیان دریایی تأمین‌کننده غذای ماهیان پرورشی، افزایش یافته است. مصرف نسبتاً گسترده و جهانی آنتی‌بیوتیک‌ها، باعث ایجاد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌ها، خطرات مسمومیت مستقیم با این داروها و تهدید سلامت مصرف‌کنندگان شده است (هاشمی و داوودی، ۱۳۹۰). ممنوعیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها از سال ۲۰۰۶ به عنوان محرک رشد و سلامت توسط اتحادیه اروپا و سپس ایالات متحده آمریکا باعث گردید تا محققان جهان همواره به دنبال جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها باشند (هاشمی و داوودی، Hashemi *et al.*, 2009; Buchanan *et al.*, ۱۳۹۰). در چند دهه‌ی اخیر استفاده از گیاهان دارویی با توجه به مزیت‌های متعدد از جمله آثار جانبی کمتر بر موجود زنده و محیط زیست، عدم ایجاد مقاومت دارویی، ارزان بودن، پایدار و در دسترس بودن، توجهات زیادی را در سطح جهان به ویژه کشورهای پیشرفته به خود جلب نموده است (رجحان، ۱۳۸۷). گیاه زیره سبز بومی خاورمیانه به ویژه جنوب شرقی ایران است (Demirci *et al.*, 2008) و در بسیاری از نواحی مذکور مخصوصاً در نواحی مختلف اروپا و آسیا کشت می‌شود (طاهری و همکاران، ۱۳۹۰؛ Akhondzadeh, 2001). زیره دارای اکثر مواد مغذی تغذیه‌ای مانند کربوهیدرات‌ها، چربی از هر دو نوع اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع، پروتئین‌ها همراه با

ویتامین‌ها، مواد معدنی و آب است. محتوای پروتئین کل، چربی و کربوهیدرات زیره سبز رسیده در جدول ۱ نشان داده شده است. محتوای پروتئین زیره سبز ۱۹ درصد و مقدار چربی آن ۱۰ درصد است که در مقایسه با غلات دیگر بیشتر است (Gopalan *et al.*, 1989; Milan *et al.*, 2008). زیره با داشتن ترکیبات مهمی مانند ۲۹/۱ درصد آلفا-پینن و ۱۷/۹ درصد ۸-اوسیتینول دارای فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بالا است (Gachkar *et al.*, 2007; Singh *et al.*, 2002). به این دلیل است که در داروها به عنوان محرک دستگاه گوارش و سیستم ایمنی استفاده می‌شود و دارای اثرات کاهندگی قند خون، کاهش چربی خون و اثرات حفاظت در برابر مواد شیمیایی است. بنابراین، زیره احتمالاً می‌تواند برای پیشگیری از بیماری‌ها و ارتقای رشد در ماهی مورد استفاده قرار گیرد (Yilmaz *et al.*, 2013).

ماهی کپور معمولی به دلیل داشتن ویژگی‌های مطلوب به یکی از گونه‌های مهم پرورشی در سطح جهان تبدیل گردیده است (Enache *et al.*, 2012). این گونه مقاوم به دامنه وسیعی از شوری و درجه حرارت آب است. مجموعه‌ای از این ویژگی‌ها باعث شده است که این گونه پتانسیل بالایی از نظر آبی‌پروری داشته باشد (Troca and Vieira, 2012) و به سرعت در سرتاسر جهان پرورش داده شود (Saikia and Das, 2009). این گونه ابتدا بومی شرق اروپا و آسیای مرکزی بود. اما طی سالیان متمادی در نقاط مختلف جهان گسترش پیدا کرده است (Kohlmann *et al.*, 2003)، به طوری که در حال حاضر به عنوان یک گونه مناسب در صنعت آبی‌پروری برای پرورش

مواد و روش‌ها

تیمار بندی و طراحی آزمایش

این تحقیق در سال ۱۳۹۱ و در آزمایشگاه خیس دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر انجام پذیرفت. به منظور انجام این تحقیق از ۱۵ تانک پلی اتیلنی مدور ۳۰۰ لیتری با حجم آب حدود ۲۵۰ لیتر در هر تانک مجهز به سیستم هوادهی استفاده شد. به منظور تأمین آب سیستم پرورشی از آب شهری کلرزدایی شده، استفاده گردید. دوره نوری نیز بر اساس شرایط طبیعی روز (حدود ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، تنظیم گردید. در این تحقیق تعداد ۲۰۰ قطعه ماهی انگشت قد کپور معمولی، در تانک‌های آب‌گیری شده، ذخیره‌سازی شدند (۱۰ قطعه ماهی به ازای هر تانک). دوره آدپتاسیون به مدت ۲ هفته به طول انجامید. در طول دوره آدپتاسیون، روزانه ۳ بار غذادهی با جیره غذایی تجاری به میزان ۳ درصد وزن بدن در ساعات ۸:۰۰، ۱۳:۰۰ و ۱۷:۰۰ انجام گرفت (محمدی و همکاران، ۱۳۹۰). قبل از شروع دوره آزمایشی، زیست‌سنجی ماهی‌ها (اندازه‌گیری طول کل و وزن کل) با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و تخته بیومتری انجام شد و ماهی‌ها به طور تصادفی بین ۱۵ تانک توزیع شدند به طوری که میانگین وزن ماهی‌های موجود در تانک‌ها اختلاف معنی دار نداشتند و میانگین وزن ماهی‌ها $20/3 \pm 0/89$ گرم و میانگین طول کل ۱۲ سانتی متر ثبت گردید (میانگین وزن نهایی $26/34 \pm 0/35$ گرم). عصاره الکلی دانه گیاه زیره سبز با استفاده از اتانول ۹۶ درصد استخراج شد. عصاره الکلی بدست آمده در شیشه‌های استریل در بسته ریخته شد و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد (زرگری، ۱۳۸۴). این مطالعه شامل ۵

در مزارع پرورشی در سطح جهان می‌باشد (FAO, 2013).

رشد و کارایی تغذیه‌ای در ماهی وابسته به ظرفیت بیوشیمیایی و فیزیولوژی ماهی برای گوارش و انتقال مواد مغذی است (Blair et al., 1997). مطالعه فعالیت آنزیمی در ماهیان می‌تواند بعضی از جنبه‌های فیزیولوژی تغذیه را روشن سازد و در رفع مشکلات تغذیه‌ای مؤثر باشد. فرآیند گوارش یک مرحله کلیدی در متابولیسم جانداران می‌باشد، زیرا این فرآیند میزان دسترسی به مواد غذایی مورد نیاز برای همه فعالیت‌های زیستی را تعیین می‌کند. بنابراین مطالعه فیزیولوژی گوارش یک مسئله خیلی مهم است زیرا اثر بخشی کامل کل فرآیند گوارش، عمدتاً وابسته به ساختمان و عملکرد آنزیم‌های گوارشی است (Gisbert et al., 2009). از آنجاکه مطالعه گوارش بدون در نظر گرفتن آنزیم‌های مؤثر در فعالیت هضم و گوارش بی‌معنی است، لذا معمولاً فرآیندهای گوارشی و فعالیت‌های آنزیمی به عنوان یک مفهوم در نظر گرفته می‌شوند و می‌توان در اکثر مواقع فعالیت گوارشی را همان فعالیت آنزیمی نامید (Rungruangsak- Torrisenen et al., 2006). ظرفیت گوارشی و فعالیت‌های آنزیمی از عوامل مهم تأثیرگذار در نرخ رشد بوده و می‌تواند نقش محدود کننده‌ای داشته باشد (Belanger et al., 2002). بنابراین می‌توان با بررسی فرآیندهای گوارشی به اطلاعات دقیق‌تری نسبت به کیفیت و میزان رشد در ماهی دست پیدا کرد. همچنین پارامترهای سرمی، آینه مناسبی از وضعیت فیزیولوژیک ماهی می‌باشد و با بررسی آنها می‌توان وضعیت ماهی را که متأثر از شرایط محیطی و تغذیه‌ای است، بررسی نمود.

غذایی پایه شامل خوراک تجاری مخصوص کپور معمولی مورد استفاده، از شرکت تولیدی ۲۱-بیضا شیراز تهیه شده بود (جدول ۱). همچنین آنالیز بیوشیمیایی تقریبی جیره‌های غذایی مورد استفاده در جدول ۲ آمده است.

تیمار با ۳ تکرار بود. جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در این تحقیق دارای مقادیر متفاوت عصاره الکلی زیره سبز (به میزان صفر (تیمار شاهد)، ۰/۵٪ (تیمار ۱)، ۱٪ (تیمار ۲)، ۱/۵٪ (تیمار ۳) و ۲٪ (تیمار ۴)) آماده‌سازی و بسته‌بندی گردید (Yilmaz et al., 2013). جیره

جدول ۱: ترکیب جیره غذایی پایه مورد استفاده

اجزای تشکیل دهنده جیره پایه	وزن خشک (درصد)
پودر ماهی	۳۹
آرد سویا	۲۳
کازئین	۱۵
آرد گندم	۷/۵
آرد برنج	۷/۵
روغن ماهی	۳
روغن آفتابگردان	۳
مخلوط مواد معدنی	۱
مخلوط ویتامین	۱

جدول ۲: آنالیز بیوشیمیایی تقریبی جیره‌های غذایی مورد استفاده براساس درصد وزن خشک

مواد مغذی	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
پروتئین	۳۶/۰۵	۳۶/۲۲	۳۶/۷۵	۳۵/۸۷	۳۵/۸۷
چربی	۵/۳۴	۵/۳	۶/۱۴	۶/۶۸	۶
خاکستر	۸/۵	۸/۳۴	۸/۱۵	۸/۳۷	۸/۱۵
رطوبت	۹/۲۳	۹/۱۱	۹/۰۴	۸/۸۷	۸/۸۴
فیبر	۶/۰۲	۵/۶۵	۵/۵۵	۵/۴۲	۵/۷۲
عصاره فاقد ازت ۱	۴۴/۰۹	۴۴/۴۸	۴۳/۴۱	۴۳/۶۵	۴۴/۲۵
کربوهیدرات ۲	۵۰/۱۱	۵۰/۱۳	۴۸/۹۶	۴۹/۰۷	۴۹/۹۷
انرژی ۳ (Kj/g)	۱۹/۱۹	۱۹/۲۲	۱۹/۴۸	۱۹/۵۰	۱۹/۳۹

^۱ Nitrogen free extract

دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی گردید. سرم‌های خون جداسازی شده تا زمان آنالیزهای بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی، ابتدا لوله گوارش ماهی‌ها به طور کامل از مری تا مخرج جدا گردید. محتویات غذای باقیمانده در روده پس از شکافتن روده خارج شده و چند بار با سرم فیزیولوژی شست و شو داده شد (Lemieux et al., 1999). سپس نمونه‌های روده داخل میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری قرار داده شد و در کنار یخ بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافته و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. نمونه‌های روده، پس از خارج کردن از میکروتیوب‌های ۲/۵ میلی‌لیتری توسط ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین گردید و قبل از آب شدن کامل یخ آن به داخل لوله‌های آزمایش شیشه‌ای انتقال یافتند. سپس نمونه‌ها توسط هموژنایزر^۱ دستی (مدل IKA®T18 basic, USA) هموژن شد (Rungruangsak-Torrissen et al., 2006). سپس به نسبت ۱ به ۹ (w/v) محلول بافر هموژن (Tris-HCl ۱۰۰ میلی مولار و EDTA ۰/۱ مولار و تریتون X-100 ۰/۱ درصد، pH=۷/۸) روی نمونه ریخته شد (Rahimi Yadkoori et al., 2015). ظروف حاوی نمونه در تمام مدت در میان یخ قرار داده شده بود. نمونه‌های هموژن شده در داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد. در ادامه محلول حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال دار (مدل K System centurion, UK) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۶۲۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شدند. سپس مایع رویی در ویال‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری تقسیم شدند و در

عصاره فاقد ازت (NFE) = ماده خشک - (چربی خام + خاکستر خام + پروتئین خام) کربوهیدرات = ۱۰۰ - (پروتئین + چربی + رطوبت + خاکستر)

انرژی بر اساس مقادیر ۱۷، ۳۹/۸ و ۲۳/۷ کیلوژول بر گرم به ترتیب برای کربوهیدرات، چربی و پروتئین محاسبه شده است.

پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب شامل دمای آب، اکسیژن محلول و pH به صورت روزانه توسط دستگاه مولتی‌متر (مدل HACH, HQ40d، ساخت کشور آلمان) اندازه‌گیری شدند و اطلاعات مربوط به آنها ثبت گردید. در طول دوره آزمایشی، روزانه ۲۰ درصد حجم آب تعویض می‌گردید. زیست‌سنجی شامل اندازه‌گیری وزن تر و طول کل ماهی‌ها در ابتدا و انتهای دوره آزمایشی انجام شد. اندازه‌گیری وزن با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۱ گرم و اندازه‌گیری طول با استفاده از تخته بیومتری با دقت ۰/۱ سانتی متر انجام گرفت.

نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه‌ها

به منظور کاهش استرس وارد شده به ماهیان یک روز قبل از نمونه‌برداری، غذادهی قطع شد. سطح آب تانک‌ها پایین آورده شده و ماهی‌های هر تانک جداگانه صید شدند و با ماده بیهوشی اوژنول با غلظت ۴۰ ppm بیهوش شدند. پس از اندازه‌گیری طول و وزن، خون‌گیری از ماهیان توسط سرنگ ۲/۵ سی‌سی هپارینه شده (آغشته به ماده ضد انعقاد هپارین) از ورید ساقه دمی انجام گرفت. نمونه‌های خون در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال یافت. سرم نمونه‌های خونی با استفاده از سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰

^۱ Homogenizer

نهایت از مایع رویی به دست آمده برای سنجش آنزیمی استفاده شد.

آنالیز آماری

طرح کلی این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی، برنامه‌ریزی و اجرا گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها شامل محاسبه میانگین و انحراف معیار با استفاده از نرم افزار SPSS (Ver.19) انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد، بیان شدند. برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون Shapiro-Wilk استفاده شد. جهت بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه، استفاده شد و تست جداساز دانکن مورد استفاده قرار گرفت و مقادیر $P < 0/05$ معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

آنزیم‌های گوارشی

نتایج تأثیر عصاره الکلی زیره سبز بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی کپور معمولی در جدول ۳، آورده شده است. فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز و آلکالین فسفاتاز در تیمارهای آزمایشی، روندی افزایشی را نشان داده‌اند که در این مطالعه به صورت وابسته به دوز تحت تأثیر عصاره الکلی زیره سبز قرار گرفته‌اند. به صورتی که کمترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها در گروه شاهد و بیشترین میزان آن در ماهیان تغذیه شده با تیمار ۴ (سطح ۲٪ عصاره الکلی زیره سبز) ثبت گردید ($p < 0/05$).

سنجش‌های آنزیمی و سرمی

فعالیت آنزیم آمیلاز بر اساس روش فتومتریک آنزیمی-کالریتری با استفاده از کیت تشخیص کمی α -Amylase شرکت پارس آزمون سنجیده شد و مقادیر آن بر حسب $U \text{ mg protein}^{-1}$ محاسبه گردید. جهت سنجش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز، کیت تشخیص کمی آلکالین فسفاتاز شرکت پارس آزمون مورد استفاده قرار گرفت و میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز بر حسب $U \text{ mg protein}^{-1}$ محاسبه گردید. میزان فعالیت آنزیم لیپاز نیز با استفاده از کیت تشخیص کمی شرکت پارس آزمون و بر حسب $U \text{ mg protein}^{-1}$ محاسبه گردید (Tietz and Shuey, 1993). جهت سنجش غلظت پروتئین کل نمونه‌ها، کیت تشخیصی کمی پروتئین کل شرکت پارس آزمون، با روش فتومتریک طبق روش Biuret (Tietz, 1974) به شرح ذیل مورد استفاده قرار گرفت و میزان پروتئین محلول نمونه‌ها بر حسب mg/L محاسبه و گزارش شد. سنجش پارامترهای سرمی با استفاده از کیت‌های تشخیص کمی شرکت پارس آزمون و به روش آنزیمی-کالریتری، به روش فتومتریک و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (مدل BS-200, Mindray, China) انجام پذیرفت.

جدول ۳: فعالیت اختصاصی آنزیم‌های گوارشی ماهیان جوان کپور معمولی تحت تأثیر سطوح مختلف عصاره الکلی زیره سبز بر حسب U/mg protein (میانگین \pm خطای استاندارد، n=۳)

شاخص	تیمارها			
	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳
آمیلاز	۲۳/۷۵ \pm ۲/۶۰ a	۲۳/۳۸ \pm ۲/۲۲ a	۲۸/۳۵ \pm ۲/۸۰ a	۵۵/۱۸۶۸ \pm ۶/۵۶ b
لیپاز	۰/۲۱ \pm ۰/۰۳ a	۰/۲۱ \pm ۰/۰۱ a	۰/۳۱ \pm ۰/۰۵ a	۱/۱۰ \pm ۰/۲۹ b
آلکالین فسفاتاز	۱۵۹۳/۹۲ \pm ۱۸۶/۸۵ a	۱۶۸۰ \pm ۱۲۱/۷۶ a	۲۲۵۱/۸۶ \pm ۳۳۸/۱۴ a	۴۵۱۱/۱۰ \pm ۷۲۹/۵۹ b

* حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار در گروه‌های آزمایشی است (P < ۰/۰۵).

پارامترهای سرمی

بر اساس نتایج بدست آمده (جدول ۴)، سطوح گلوکز سرم خون ماهیان جوان کپور معمولی تحت تأثیر سطوح مختلف عصاره الکلی زیره سبز در رژیم غذایی این ماهیان به طور معنی داری کاهش یافت (P < ۰/۰۵) به نحوی که بیشترین میزان گلوکز سرم در تیمار شاهد به میزان ۲۴/۸۲ \pm ۱۶۱/۶۷ mg/dl و کمترین آن مربوط به تیمار ۳ به میزان ۶/۶۲ \pm mg/dl بود. مقادیر پروتئین کل^۱ سرم ماهیان تحت تأثیر سطوح مختلف عصاره الکلی زیره سبز به طور معنی داری کاهش یافت (P < ۰/۰۵) به نحوی که بیشترین میزان پروتئین کل سرم با مقدار ۰/۴۶ \pm mg/dl مربوط به تیمار شاهد و کمترین مقدار مربوط به تیمار ۴ به میزان ۰/۰۶ \pm ۲/۷۳ mg/dl بوده است که بین گروه شاهد و تیمارهای ۲، ۳ و ۴ اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ مشاهده گردید. نتایج تأثیر سطوح مختلف عصاره الکلی زیره سبز، روی مقادیر آلبومین سرم نشان از کاهش مقدار آلبومین سرم در تیمارهای آزمایشی داشته است. میزان تری گلیسرید سرم خون ماهیان جوان کپور معمولی تحت تأثیر سطوح مختلف عصاره الکلی

زیره سبز به طور معنی داری تغییر پیدا نکرد (P > ۰/۰۵). بیشترین میزان تری گلیسرید سرم با مقدار ۲/۸۶ mg/dl و کمترین مقدار در تیمار ۴ به میزان ۲۳۸ \pm ۵/۳۱ mg/dl مشاهده گردید. همچنین نتایج دارای یک روند کاهشی در مقادیر تری گلیسرید سرم از تیمار شاهد به سمت تیمار ۴ بود اما اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی و گروه شاهد مشاهده نشد. در این آزمایش مقدار کلسترول سرم خون ماهیان جوان کپور معمولی تحت تأثیر سطوح مختلف عصاره الکلی زیره سبز در جیره غذایی به طور معنی داری کاهش یافت (P < ۰/۰۵). بر اساس آنالیز آماری انجام شده میزان کلسترول سرم دارای یک روند کاهشی از تیمار شاهد به سمت تیمار ۴ بوده است، به نحوی که حداکثر میزان کلسترول سرم به میزان ۱۲۷/۸ \pm ۲/۴۹ mg/dl مربوط به تیمار شاهد و کمترین آن با مقدار ۱/۲۸ \pm mg/dl مربوط به تیمار ۴ می باشد. بر اساس آنالیز آماری انجام شده بین گروه شاهد و تیمار ۳ و ۴ اختلاف آماری معنی دار در سطح ۰/۰۵ مشاهده شد.

سطوح مختلف عصاره الکلی زیره سبز باعث کاهش مقدار LDL سرم خون ماهیان جوان کپور معمولی شده است اما این کاهش از نظر آماری

^۱ Total protein

تحت تیمار عصاره الکلی زیره سبز از روند خاصی پیروی نکرد به طوری که یک افزایش در میزان کلسیم سرم تیمار ۲ مشاهده شد و مقدار کلسیم سرم در تیمارهای ۳ و ۴ کاهش یافت. مقادیر فسفر سرم تحت تأثیر سطوح مختلف عصاره الکلی زیره سبز به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0/05$) به نحوی که یک روند افزایشی در مقادیر فسفر سرم خون ماهیان مشاهده شد. کمترین میزان فسفر سرم مربوط به تیمار شاهد با مقدار $6/72 \pm 0/38$ mg/dl و بیشترین مقدار آن مربوط به تیمار ۴ به میزان $9/56 \pm 0/66$ mg/dl بود. براساس آنالیز آماری انجام شده بین تیمار شاهد با تیمارهای ۲، ۳ و ۴ اختلاف معنی دار مشاهده گردید ($P < 0/05$). همچنین بین تیمارهای ۳ و ۴ نیز با تیمار یک اختلاف معنی دار در سطح $0/05$ مشاهده گردید.

معنی دار نبوده است. همچنین نتایج حاصل از اثرات سطوح مختلف عصاره زیره سبز بر میزان HDL سرم حاکی از افزایش تقریبی میزان HDL سرم خون ماهیان است. اما این افزایش در مقایسه با گروه شاهد و نیز سایر گروه‌ها از نظر آماری اختلاف معنی داری نداشت. نتایج حاصل از بررسی اثر عصاره زیره سبز روی غلظت کلسیم سرم نشان از عدم تأثیر معنی دار عصاره الکلی زیره سبز روی این فاکتور سرمی دارد به نحوی که تفاوت معنی داری بین گروه شاهد با تیمارهای آزمایشی مشاهده نگردید. مقدار کلسیم سرم تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت اما این افزایش از لحاظ آماری معنی دار نبوده است ($P > 0/05$). بیشترین مقدار کلسیم سرم مربوط به تیمار ۲ به میزان $9/78 \pm 0/19$ mg/dl بود. سطوح کلسیم سرم خون ماهیان

جدول ۴: پارامترهای بیوشیمیایی سرم ماهیان جوان کپور معمولی تحت تأثیر سطوح مختلف عصاره الکلی زیره سبز (میانگین \pm خطای

استاندارد، $n=3$)

تیمارها					
شاخص ها (mg/dl)	شاهد	تیمار ۱	تیمار ۲	تیمار ۳	تیمار ۴
گلوکز	$161/67 \pm 24/82a$	$104/2 \pm 4/26b$	$108/8 \pm 4/77b$	$103/38 \pm 6/62b$	$109/75 \pm 6/32b$
پروتئین کل	$3/42 \pm 0/46a$	$2/94 \pm 0/11ab$	$2/76 \pm 0/13b$	$2/73 \pm 0/12b$	$2/73 \pm 0/06b$
آلبومین	$2/31 \pm 0/07a$	$2/3 \pm 0/07a$	$1/56 \pm 0/05c$	$1/66 \pm 0/11c$	$1/9 \pm 0/09b$
تری گلیسرید	$238 \pm 2/87$	$226/6 \pm 7/4$	$226/14 \pm 7/73$	$217/17 \pm 6/89$	$205/22 \pm 5/31$
کلسترول	$127/8 \pm 2/5a$	$123 \pm 4/49ab$	$121/88 \pm 3/15ab$	$118 \pm 2/66b$	$115/88 \pm 1/29b$
LDL	$61/29 \pm 3/1$	$61/29 \pm 4/9$	$61/5 \pm 4/5$	$60/25 \pm 1/48$	$60/56 \pm 3/28$
HDL	$26/5 \pm 0/46$	$26/88 \pm 1/17$	$27/25 \pm 0/9$	$27/57 \pm 0/37$	$26/44 \pm 0/6$
کلسیم	$9/28 \pm 0/23$	$9/25 \pm 0/15$	$9/78 \pm 0/19$	$9/47 \pm 0/25$	$9/37 \pm 0/15$
فسفر	$6/72 \pm 0/38c$	$7/18 \pm 0/5bc$	$8/88 \pm 0/53ab$	$9/45 \pm 0/87a$	$9/56 \pm 0/67a$

* حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی دار در گروه‌های آزمایشی است ($P < 0/05$).

بحث

در مطالعه‌ای که توسط قائدی (۱۳۹۳) صورت پذیرفت، سطوح مختلف عصاره الکلی زیره سبز باعث بهبود اکثر شاخص‌های رشد و تغذیه از قبیل شاخص افزایش وزن بدن، نرخ رشد ویژه، شاخص‌های وضعیت، نسبت تبدیل غذایی، نسبت بازده پروتئین، نسبت بازده چربی، کل غذای مصرف شده، مصرف خالص پروتئین و مصرف خالص چربی در ماهی جوان کپور معمولی گردیده است. زیره سبز دارای اجزای حیاتی از جمله روغن‌های ضروری، اسیدهای چرب ضروری (لینولئیک، لینولنیک و آراشیدونیک اسید)، ویتامین‌ها، مواد معدنی و غیره می‌باشد که تأثیر این اجزاء به خصوص اسیدهای چرب ضروری بر رشد انواع ماهی‌ها توسط تعدادی از محققین به اثبات رسیده است (Murray *et al.*, 1991). این اسیدهای چرب ضروری در بدن مهره‌داران سنتز نمی‌شوند. ماهیان آب شیرین از جمله کپور معمولی می‌توانند اسیدهای چرب لینولئیک و لینولنیک را به اسیدهای چرب بلند زنجیره غیراشباع یعنی آراشیدونیک اسید (18:4n6,ARA)، ایکوزاپنتانویئیک اسید (20:5n3,EPA) و دکوزاهگزانویئیک اسید (22:6n3,DHA) تبدیل کنند. فعالیت آنزیم‌های گوارشی و جذب مواد مغذی از جمله فرآیندهای سوخت و سازی مهم هستند که یک ذخیره انرژی پایدار را تأمین می‌کند که منجر به افزایش نرخ رشد ماهیان می‌شود (Blier *et al.*, 1997; Nya and Austin, 2011 and Austin, 2011). میزان بالای ترشح و افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی به معنای دسترسی به مواد مغذی در ماهی به منظور رشد و فرآیندهای سوخت و سازی است. بنابراین در دسترس بودن مواد مغذی می‌تواند از طریق وجود فعالیت آنزیمی محدود شود

(Cohen *et al.*, 1981; Krogdahl *et al.*, 1994). شکسته شدن مواد مغذی بزرگ زنجیره به زیر واحدهای کوچک قابل جذب در مجرای گوارشی جانوران تا حد زیادی وابسته به سطح آنزیم‌های موجود است (Awad *et al.*, 2012). یافته‌های پیشین تأیید می‌کنند که تجویز خوراکی زیره سبز منجر به تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی و بهبود قابلیت هضم مواد مغذی در روده می‌شود (Ali *et al.*, 2011). در مطالعه حاضر افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های گوارشی در تیمارهای ۱/۵ و ۲ درصد عصاره زیره سبز در مقایسه با گروه شاهد و تیمارهای ۰/۵ و ۱ درصد مشاهده گردید که می‌تواند بهبود شاخص‌های تغذیه‌ای را در ماهی جوان کپور معمولی توجیه نماید. آنزیم‌های روده‌ای به عنوان مسئول گوارش نهایی لیوپروتئین‌ها در نظر گرفته می‌شوند که این آنزیم‌ها در سیتوزول و غشای لبه مسواکی انتروسیت‌ها (سلول‌های پوششی روده) یافت می‌شوند. این آنزیم‌ها شامل آمیلاز، لیپاز، آلکالین فسفاتاز و پروتئازها هستند (Hendriks *et al.*, 1990; Nya and Austin, 2011). آنزیم آلکالین فسفاتاز در فرآیند جذب و انتقال لیپید و کربوهیدرات از عرض سلول‌های دیواره روده مشارکت می‌کند (Fraisse *et al.*, 1981; Nya and Austin, 2011).

مطالعه کنونی افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز را در تیمارهای آزمایشی ۱/۵ و ۲ درصد زیره سبز در مقایسه با تیمارهای ۰/۵ و یک درصد عصاره زیره سبز و گروه شاهد نشان داد. در راستای نتایج بدست آمده از این مطالعه، بررسی انجام شده توسط Milan و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که عصاره آب گرم^۱ و عصاره نمکی^۲

¹ Hot water extract

² Saline extract

زیره سبزه باعث افزایش فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز استخراج شده از باکتری *Bacillus licheniformis* شدند. همچنین Platel و همکاران (۲۰۰۲) گزارش دادند که عصاره آبی گیاهانی مانند زیره سبز، گشنیز^۱ (از خانواده چتریان)، زردچوبه^۲، فلفل قرمز (پاپریکا)^۳، فلفل سیاه، زنجبیل^۴ و پیاز^۵ فعالیت آنزیم آمیلاز مترشح از پانکراس را افزایش می‌دهد. در مطالعه انجام شده توسط قائدی و همکاران (۱۳۹۳)، با افزایش غلظت عصاره زیره سبز در جیره غذایی، شاخص نسبی طول روده ماهی به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت که احتمالاً این افزایش طول روده باعث افزایش جذب مواد مغذی در ماهی می‌شود و افزایش هضم و جذب مواد مغذی در روده باعث بهبود شاخص‌های رشد می‌شود (قائدی و همکاران، ۱۳۹۳). افزایش طول روده در ماهیان آزمایشی تحت تیمار عصاره الکلی زیره سبز سطح مقطع بیشتری برای فعالیت آنزیم‌های گوارشی فراهم نموده و افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده را توجیه می‌نماید.

آنزیم آلفا-آمیلاز هیدرولیز کننده کربوهیدرات‌ها است (Papoutsoglou and Lyndon, 2003) و توسط بافت پانکراس، کبد (Klahan et al., 2009)، دیواره روده (Cahill, 1990)، میکروفلور روده (Sugita et al., 1997) و آنزیم‌های موجود در غذا (Akpan et al., 2004) به درون مجرای روده ترشح می‌شود. Srinivasan (۲۰۰۵) بیان نمود که ترکیبات فعال مختلف موجود در افزودنی‌ها یا گیاهان دارویی با افزایش دادن اسید صفرا و تحریک پانکراس، هضم و جذب مواد غذایی را تحریک می‌کنند و فعالیت آنزیم‌های گوارشی را افزایش می‌دهد. بررسی‌های انجام شده روی جانوران نشان داد که زیره سبز ترشح آنزیم‌های پانکراسی را که عوامل مهمی در زمینه هضم و جذب مواد مغذی هستند را تحریک می‌کند (Bhosale et al., 2010). برخی از محققان افزایش فعالیت‌های گوارشی توسط عصاره‌های گیاهی را که در نتیجه منجر به بهبود سنتز ویتامین‌ها، کوفاکتورها و فعالیت آنزیمی می‌شود را به وجود محرک‌های رشد یا ترکیبات فعال موجود در آن‌ها (مانند فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و تانن‌ها) نسبت می‌دهند (Azu and Onyeagba, 2007). آنزیم لیپاز به طور عمده توسط پانکراس ترشح می‌شود و یک نقش مهم در تجزیه چربی‌ها به ویژه تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها ایفا می‌کند که منجر به هضم و جذب آن‌ها می‌شود. در این تحقیق سطوح بالای عصاره الکلی زیره سبز فعالیت آنزیم لیپاز را افزایش داد. در راستای این نتایج، یافته‌های حاصل از مطالعه Milan و همکاران (۲۰۰۸) افزایش فعالیت آنزیم لیپاز پانکراس خوک را در مورد عصاره آبی و نمکی زیره سبز نشان داد. همچنین Platel و همکاران گزارش دادند که ترکیب افزودنی‌هایی شامل گشنیز، زردچوبه، فلفل قرمز (پاپریکا)، فلفل سیاه، زیره سبز، زنجبیل و پیاز فعالیت آنزیم‌های لیپاز و کیموتریپسین پانکراس را افزایش می‌دهد. ترکیب افزودنی‌های گیاهی و یا گیاهان دارویی بیشترین اثر تحریکی را به ویژه روی ترشح صفرا، خروج اسیدهای صفراوی و فعالیت آنزیم‌های پانکراسی دارند (Platel et al., 2002). افزودنی‌ها از طریق دو ساز و کار، ترشح بیشتر صفرا و تحریک مؤثر آنزیم‌های گوارشی پانکراسی، به فرآیند گوارش کمک می‌کنند (Platel

زیره سبزه باعث افزایش فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز استخراج شده از باکتری *Bacillus licheniformis* شدند. همچنین Platel و همکاران (۲۰۰۲) گزارش دادند که عصاره آبی گیاهانی مانند زیره سبز، گشنیز^۱ (از خانواده چتریان)، زردچوبه^۲، فلفل قرمز (پاپریکا)^۳، فلفل سیاه، زنجبیل^۴ و پیاز^۵ فعالیت آنزیم آمیلاز مترشح از پانکراس را افزایش می‌دهد. در مطالعه انجام شده توسط قائدی و همکاران (۱۳۹۳)، با افزایش غلظت عصاره زیره سبز در جیره غذایی، شاخص نسبی طول روده ماهی به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت که احتمالاً این افزایش طول روده باعث افزایش جذب مواد مغذی در ماهی می‌شود و افزایش هضم و جذب مواد مغذی در روده باعث بهبود شاخص‌های رشد می‌شود (قائدی و همکاران، ۱۳۹۳). افزایش طول روده در ماهیان آزمایشی تحت تیمار عصاره الکلی زیره سبز سطح مقطع بیشتری برای فعالیت آنزیم‌های گوارشی فراهم نموده و افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی روده را توجیه می‌نماید.

آنزیم آلفا-آمیلاز هیدرولیز کننده کربوهیدرات‌ها است (Papoutsoglou and Lyndon, 2003) و توسط بافت پانکراس، کبد (Klahan et al., 2009)، دیواره روده (Cahill, 1990)، میکروفلور روده (Sugita et al., 1997) و آنزیم‌های موجود در غذا (Akpan et al., 2004) به درون مجرای روده ترشح می‌شود. Srinivasan (۲۰۰۵) بیان نمود که ترکیبات فعال مختلف موجود در افزودنی‌ها یا گیاهان دارویی با افزایش دادن اسید صفرا و تحریک پانکراس، هضم و

3 Coriander (*Coriandrum sativum*)

4 *Curcuma longd*

5 *Capsicum annuum*

6 *Zingiber officinale*

7 *Allium cepa*

کلستریدیومی روده کوچک جوجه‌های گوشتی^۱ قبلاً گزارش شده است (Sharifi *et al.*, 2013). لذا کاهش باکتری‌های مضر در روده و همچنین افزایش فعالیت هضمی دستگاه گوارش از دلایل اثرات مثبت استفاده از زیره سبز در جیره غذایی می‌باشد. به نظر می‌رسد همان گونه که در مطالعه فعلی و در مورد جوجه‌های گوشتی هم مشاهده شد استفاده از زیره سبز در غلظت‌های بالا برای مشاهده اثرات معنی‌دار آن ضروری است. زمانی که مراکز عصبی توسط ترکیبات تند موجود در گیاهان تحریک می‌شود ترشحات شیره‌های معدی و گوارشی افزایش پیدا کرده و افزایش این ترشحات باعث بهبود فرآیند گوارش می‌گردد (Platel and Srinivasan, 2004).

آنزیم فسفاتاز قلیایی در جذب مواد مغذی مثل لیپید، گلوکز، کلسیم، فسفات معدنی (Mahmood *et al.*, 1994) و نیز در فرآیند معدنی‌سازی اسکلت جانوران آبی، انتقال فسفات و هیدرولیز پروتئین‌های فسفوریله شده نقش دارد (Letelier *et al.*, 1985). وجود سطح بالای آنزیم آلکالین فسفاتاز در روده بیانگر ظرفیت بالای جذب مواد مغذی، رشد و بلوغ روده و در نهایت رشد ماهی است (طاهری و همکاران، ۱۳۹۰؛ Nya and Austin, 2011). البته در یک پژوهش دیگر بیان شده که رژیم غذایی حاوی زیره سبز، شنبلیله^۲، خردل^۳ و آنقوزه^۴ (از خانواده آبیاسه) باعث کاهش سطوح فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز و ساکاراز در موکوس روده‌ای شده است (Platel and Srinivasan, 1996). مطالعات انجام شده توسط برخی محققین حاکی از آن است که تغییرات سطوح آنزیم

(and Srinivasan, 1996; Platel *et al.*, 2002) در خصوص آنزیم آلکالین فسفاتاز، می‌توان این گونه استنباط نمود که تنها سطوح بالای عصاره زیره سبز می‌تواند فعالیت آنزیم را تحت تأثیر قرار دهد و سطوح پایین عصاره الکلی زیره سبز بر عملکرد این آنزیم تأثیر قابل ملاحظه‌ای نداشته است. در راستای نتایج حاصل از این تحقیق، در مطالعه انجام شده توسط Milan و همکاران (۲۰۰۸) عصاره آب گرم و نمکی زیره سبز باعث افزایش قابل ملاحظه‌ی فعالیت آنزیم پروتئاز استخراج شده از خوگ و نیز افزایش چشمگیر فعالیت آنزیم فیتاز به دست آمده از گندم گردید. همچنین بررسی انجام شده توسط Nya و Austin (۲۰۱۱) نشان داد که جیره‌های حاوی سیر، زنجبیل و لیپوبلی ساکارید (یکی از ترکیبات موجود در عصاره زیره سبز) به طور معنی‌داری فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز روده و غشای لبه مسواکی را نسبت به گروه شاهد افزایش داد. آنزیم آلکالین فسفاتاز در فرآیند جذب و انتقال لیپید و کربوهیدرات از عرض سلول‌های دیواره روده مشارکت می‌کند (Fraisie *et al.*, 1981; Nya and Austin, 2011). آنزیم آلکالین فسفاتاز توسط سلول‌های انتروسیست بالغ غشای لبه مسواکی تولید می‌شود و بنابراین یک شاخص عملکرد سلول‌های انتروسیست روده است (Traber *et al.*, 1992; Uni *et al.*, 1998; Nya and Austin, 2011). وجود آن‌ها در مقادیر بالا در بافت پوششی روده، توان جذب بالای مواد مغذی را نشان می‌دهد. زیره سبز حاوی ترکیباتی به نام کومین آلدئید (Cuminaldehyde) و پی سیمن (P-cymene) است که علاوه بر اثرات ضد میکروبی، فعالیت دستگاه گوارش را نیز تحریک می‌کنند (Zargari, 1997). اثرات مثبت زیره سبز در کاهش باکتری‌های

^۱ Broiler chicks^۲ Fenugreek (*Trigonella foenumgraecum*)^۳ Mustard (*Brassica nigra* or *B.juncea*)^۴ Asafoetida (*Ferula assa-foetida*)

جوجه‌های گوشتی گردید ($P < 0/05$). تحقیقات نشان داده که زیره سبز از جمله گیاهانی است که دارای خاصیت پایین آورنده گلوکز خون می‌باشد (Anuradha, 2004; Lee, 2005). در مطالعه‌ای که تأثیر برخی اسانس‌ها روی متابولیسم انسولین در موش‌های دیابتی مورد بررسی قرار گرفت عنوان شد که اسانس زیره سبز می‌تواند در افزایش حساسیت به انسولین نقش داشته باشد (Talpur and Echard., 2005) و در مطالعه‌ای که به منظور بررسی فعالیت ضد دیابتیک اسانس زیره سبز روی موش‌های صحرایی انجام شد، مشخص گردید کومین آلدئید که از اجزای عمده و ماده زیستی فعال اسانس زیره سبز می‌باشد می‌تواند به عنوان مهارکننده آنزیم‌های آلدوزردوکتاز^۲ و آلفا گلیکوزیداز^۳ عمل نماید. بنابراین می‌توان گفت ترکیب کومین آلدئید اسانس زیره سبز می‌تواند به عنوان یک عامل برای داروهای ضد دیابت به کار رود (Lee, 2005; Bettaieb et al., 2011). زیره سبز از جمله گیاهانی است که با افزایش ترشح انسولین باعث کاهش گلوکز خون می‌شود (قطره سامانی و همکاران، ۱۳۸۹). می‌توان گفت اسانس و نیز عصاره زیره سبز ممکن است از طریق تأثیر بر متابولیسم انسولین و سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها در کاهش گلوکز خون نقش داشته باشد (Badary et al., 1998; Meral et al., 2004).

در این مطالعه عصاره الکلی زیره سبز در ماهیان جوان کپور معمولی باعث کاهش معنی‌دار میزان کلسترول سرم گردید. هم‌راستا با نتایج حاصل از این مطالعه Saad و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند که مقادیر

آلکالین فسفاتاز تحت تأثیر فاکتورهای مختلفی نظیر وضعیت شیمیایی آب، میزان مصرف و جذب غذا، دما، سن ماهی و ترکیبات موجود در جیره غذایی بخصوص مواد معدنی و بالاخص فسفر است (Sknoberg et al., 1997). همچنین تفاوت در نتایج می‌تواند ناشی از تفاوت در گونه مورد مطالعه و تفاوت‌های گونه‌ای باشد.

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، می‌توان این گونه استنباط نمود که افزودن عصاره زیره سبز به جیره غذایی ماهی تا حد معینی باعث کاهش گلوکز سرم می‌شود. در راستای نتایج بدست آمده از این پژوهش، مطالعات روی موش‌های صحرایی دیابتی نشان داد عصاره الکلی زیره سبز می‌تواند در کاهش میزان گلوکز خون مؤثر باشد و حتی نقش آن مؤثرتر از داروی گلی بن گلامید در درمان دیابت می‌باشد (Jagtap and Patil., 2010). همچنین محیطی اردکانی و همکاران (۱۳۹۰) مشاهده نمودند که با شروع مصرف اسانس زیره سبز (به میزان $400 \mu\text{g}/\text{kg}$) در جیره غذایی موش‌های صحرایی نژاد ویستار^۱، میزان گلوکز خون موش‌ها کاهش می‌یابد و در گروهی که اسانس زیره را به همراه رژیم غذایی پرچرب دریافت می‌کردند میزان گلوکز خون نسبت به گروه شاهد کاهش یافت که این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار بود. همچنین در راستای یافته‌های به دست آمده از این مطالعه کاهش معنی‌دار غلظت گلوکز خون موش‌های تغذیه شده با جیره حاوی سیاه‌دانه گزارش داده شد (Nair et al., 2002 a,b; Zaoui et al., 1991). و نیز در تحقیق انجام شده توسط Amad و همکاران (۲۰۱۳) تجویز خوراکی پودر سیاه‌دانه باعث کاهش معنی‌دار گلوکز سرم

^۱ Aldose reductase
^۲ Alpha-glucosidase

^۱ Wistar race

فسفولیپیدهای بافت‌ها و سرم نقش داشته باشد (Dhandapani *et al.*, 2002; Kochhar, 2008). گزارش شده که سنتز کمتر کلسترول، بیان‌گیرنده‌های LDL در سلول‌های هپاتوسیت را افزایش می‌دهد که منجر به جذب بیشتر LDL توسط سلول‌های هپاتوسیت کبدی و در نهایت غلظت کمتر کلسترول LDL خون می‌شود (Fukushima and Nakano, 1995).

به نظر می‌رسد که مقادیر بیشتر عصاره زیره سبز در جیره غذایی بتواند مقدار تری‌گلیسرید سرم را به سطوح پایین‌تری کاهش دهد. در راستای نتایج به دست آمده از این مطالعه، محیطی اردکانی و همکاران (۱۳۹۰) با شروع مصرف اسانس زیره سبز کاهش معنی‌دار تری‌گلیسرید خون را هم در تیمار زیره سبز با جیره غذایی استاندارد و هم در تیمار زیره سبز با جیره غذایی پرچرب نسبت به گروه‌های شاهد مشاهده نمودند. هم‌راستا با نتایج حاصل از این مطالعه، Saad و همکاران (۲۰۱۳) پی بردند که مقادیر تری‌آسیل‌گلیسرول و لیپوپروتئین‌های با چگالی خیلی پایین در ماهیان سی‌باس تحت تیمار ترکیب سیاه‌دانه و زردچوبه و نیز هر یک از این گیاهان به طور مجزا به طور معنی‌داری کاهش یافت. عصاره الکلی زیره سبز توانست باعث کاهش معنی‌دار پروتئین کل و آلبومین سرم شود. غلظت پروتئین سرم و آلبومین سرم یک شاخص مهم سیستم دفاع هومورال ماهی است و به طور ویژه در ماهیان تغذیه شده با عصاره‌های گیاهی افزایش می‌یابد. غلظت پروتئین کل سرم با غلظت تری‌گلیسرید سرم رابطه مستقیم دارد. ارتباط تری‌گلیسریدها و پروتئین کل احتمالاً به این خاطر است که تری‌گلیسریدها به دلیل عدم حلالیت در آب قادر به انتقال در پلاسما نیستند از این رو با برخی لیپوپروتئین‌ها و کلسترول

کلسترول کل در ماهیان سی‌باس تحت تیمار ترکیب سیاه‌دانه و زردچوبه به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین در راستای یافته‌های حاصل از این مطالعه، محیطی اردکانی و همکاران (۱۳۹۰) مشاهده نمودند که میزان کلسترول سرم موش‌های صحرایی نژاد ویستار در گروه شاهد با رژیم غذایی استاندارد و گروه شاهد با رژیم غذایی پرچرب افزایش می‌یابد اما در تیمار اسانس زیره سبز با رژیم غذایی استاندارد و گروه زیره با جیره غذایی پرچرب میزان کلسترول سرم کاهش یافت که کاهش آن نسبت به گروه شاهد از لحاظ آماری معنی‌دار بود. اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌توانند با کاهش لیپیدهای سرم، ذخیره چربی در محوطه بطنی را کاهش دهند (Yoshioka *et al.*, 1998; Kochhar, 2008) و به این ترتیب باعث بهبود کیفیت لاشه و همچنین حفظ سلامتی مصرف‌کننده شود. فلور میکروبی روده با تجزیه اسیدهای صفراوی که در کبد از کلسترول ساخته می‌شوند نقش مهمی در کاهش کلسترول سرم دارند (شریفی و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین علت کاهش کلسترول سرم می‌تواند به دلیل افزایش متابولیسم کلسترول و لیپیدها در کبد ناشی از فعالیت ترکیبات مؤثر زیره سبز باشد. با توجه به این که مهم‌ترین محل متابولیسم چربی‌ها در کبد می‌باشد، بنابراین کاهش میزان کلسترول و تری‌گلیسرید از بار اضافی کبد جلوگیری کرده، در نتیجه از مستعد شدن ماهی در مقابل بیماری‌هایی همچون سندرم کبد چرب جلوگیری می‌نماید.

مطالعات محدودی به اثر عصاره زیره سبز بر لیپیدهای سرم اشاره دارد. مطالعه روی موش‌های صحرایی دیابتی نشان داد عصاره الکلی زیره سبز می‌تواند در کاهش میزان لیپیدها از جمله کلسترول و

بر اساس یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر، افزودن عصاره الکلی زیره سبز به جیره غذایی بچه ماهی کپور معمولی باعث بهبود فعالیت آنزیم‌های گوارشی و برخی از پارامترهای سرمی در این گونه می‌گردد. جیره‌های حاوی ۱/۵ و ۲ درصد عصاره زیره سبز (تیمارهای ۳ و ۴) باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های گوارشی سنجش شده در مطالعه حاضر (آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز و آلکالین فسفاتاز) گردید. همچنین تجویز خوراکی عصاره الکلی زیره سبز باعث کاهش معنی‌دار گلوکز، کلسترول تام، آلبومین و پروتئین کل سرم و افزایش معنی‌دار فسفر سرم گردید. داده‌های آماری حاصل از این مطالعه فعالیت بالاتر آنزیم‌های آمیلاز، لیپاز و آلکالین فسفاتاز را در رابطه با عصاره الکلی زیره سبز و در نتیجه نقش بالقوه آن را در بهبود بخشیدن فعالیت گوارشی ثابت می‌کند.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، به علت حمایت مالی و تامین تجهیزات مورد نیاز انجام این تحقیق، اعلام می‌دارند.

منابع

۱. رجحان، م. ص. ۱۳۸۷. دارو و درمان گیاهی. چاپ پنجم، انتشارات فرهیختگان علوی، ۲۸۷ صفحه.
۲. شاهسونی، د.، مهری، م.، مازندرانی، م. ۱۳۸۴. تعیین مقادیر برخی از الکترولیت های سرم خون ماهی خاویاری قره برون (*Acipenser persicus*). مجله دامپزشکی ایران، دانشگاه شهید چمران

مجموعه‌ای را تشکیل می‌دهند که قابل انتقال در پلاسما باشند و افزایش یا کاهش ساخت این لیوپروتئین‌ها احتمالاً بر غلظت پروتئین کل تأثیر گذار می‌باشد (شهبازی و ملک نیا، ۱۳۷۴؛ شاهسونی و همکاران، ۱۳۸۴). اثرات منفی گیاهان دارویی ممکن است مربوط به ترکیبات سمی، سطوح بیش از اندازه و شرایط حساسیت زا باشد اما به طور کلی در صورتی که غلظت بهینه آن‌ها بکار برده شود تأثیر منفی روی رشد و پارامترهای سلامت ندارند (Bandaranayake, 2006).

با توجه به نتایج به نظر می‌رسد عصاره الکلی زیره سبز بر کلسیم سرم خون ماهیان بی تأثیر باشد. در راستای این یافته‌ها در بررسی انجام شده توسط Abdelwahab و El-Bahr (۲۰۱۲) ترکیب سیاه‌دانه و زردچوبه در جیره غذایی ماهی سی‌باس آسیایی غلظت کلسیم سرم خون بچه ماهی‌های کپور را تحت تأثیر قرار نداد و هیچ اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد نداشت.

در مطالعه کنونی افزودن عصاره الکلی زیره سبز به جیره غذایی بچه ماهیان کپور معمولی مقدار فسفر سرم را افزایش داد به طوری که روند افزایشی در نمودار فسفر سرم خون بچه ماهیان مشهود است اما تیمارهای ۲، ۳ و ۴ اختلاف بیشتری با گروه شاهد داشتند که نشان می‌دهد سطوح بالاتر عصاره زیره سبز میزان فسفر سرم را بیشتر تحت تأثیر قرار داده است. فسفر علاوه بر شرکت در فیزیولوژی استخوان، در تشکیل آدنوزین تری فسفات نقش داشته و همچنین در اسیدهای نوکلئیک یافت می‌شود که جزئی از سلول‌ها را تشکیل می‌دهند و با ساخت پروتئین‌های بدن و انتقال خصوصیات ارثی ارتباط دارند. ضمناً فسفر یک عنصر حیاتی برای پروتوپلاسم‌های سلولی و بافت‌های عصبی می‌باشد.

- اهواز، پاییز ۱۳۸۵، جلد ۲، مسلسل ۱۳، صفحات ۱۱۲-۱۱۷.
۳. شریفی، س. د.، حسنی خرسندی، س.، خادم، ع.ا. و صالحی، ع. ر.، ۱۳۹۰. بررسی اثر چهار گیاه دارویی (نعناع، زیره سبز، بومادران و گلپوره) بر عملکرد و غلظت لیپیدهای سرم جوجه های گوشتی، فصلنامه گیاهان دارویی، ۱(۸): ۹۲-۸۳.
۴. شهبازی، پ. و ملک نیا، ن.، ۱۳۷۴. بیوشیمی عمومی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ چهاردهم. جلد دوم. ص ۱۷۱-۱۷۲ و ۲۳۷.
۵. طاهری، ع.، عابدیان کناری، ع.، حلاج، ر.، حبیبی رضایی، م.، معتمد زادگان، ع. و اوجی فرد، ا. ۱۳۹۰. تأثیر مقادیر متفاوت پروتئین آبکافت روی آنزیم‌های گوارشی آلون‌های ماهی قزل آلاهی رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). پاتوبیولوژی مقایسه ای، علمی- پژوهشی، سال هشتم، شماره ۴، ۶۷۴-۶۶۵.
۶. قانندی، ف. ۱۳۹۳. اثرات عصاره الکلی زیره سبز بر رشد، تغذیه و آنالیز بیوشیمیایی لاشه ماهی جوان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، ۹۲ صفحه.
۷. قطره سامانی، ک.، فرخی، ع.، رفیعان، م.، ربیعی، ر. ا. و صادقی، م.، ۱۳۸۹. بررسی تأثیر زیره سبز (*Cuminum cyminum*) بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز- آ. مجله علوم پزشکی شهرکرد، ۱۲(م) ۱-۶.
۸. محیطی اردکانی، ج.، اکبریان، ز. و نظریان، ا.، ۱۳۹۰. تأثیر اسانس زیره سبز بر میزان گلوکز و لیپیدهای خون در موش‌های صحرایی، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۱۳(۱۹): ۳۸۸-۳۹۷.
۹. هاشمی، س. ر. و داودی، ه. ۱۳۹۰. جایگزین های جدید آنتی بیوتیک به عنوان محرک های رشد و سلامت. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان. دوره ۱۳، شماره ۴، صفحات ۱۰-۱.
10. Abdelwahab, A. and El-Bahr, S. 2012. Influence of Black Cumin Seeds (*Nigella sativa*) and Turmeric (*Curcuma longa* Linn.) Mixture on Performance and Serum Biochemistry of Asian Sea Bass, *Lates calcarifer*. World, 4(5), 496-503.
11. Akhondzadeh, S., Naghavi, H., Vazirian, M., Shayeganpour, A., Rashidi, H. and Khani, M. 2001. Passionflower in the treatment of generalized anxiety: a pilot double-blind randomized controlled trial with oxazepam. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 26(5), 363-367.
12. Akpan, I. and Adelaja, F. 2004. Production and stabilization of amylase preparations from rice bran solid medium. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(1), 47-50.
13. Ali, M., Moustafa, K.E.K.M.E., Shabaan, M., Radwan, A. and Sayed, M. 2011. Effect of using *Cuminum cyminum*, citric acid and sodium sulphate for improving the utilization of low protein low energy broiler diets. *International Journal of Poultry Science*, 10(7), 514-522.
14. Amad, A.A. and Radman, M.A. 2013. Effect of dietary black cumin seeds (*Nigella Sativa*) on performance, carcass traits and some blood parameters in broiler chicks. Conference on International Research on Food Security, Natural Resource Management and Development, Stuttgart, Germany 1-4.
15. Anuradha, V. and Devi, A. 2004. Hypoglycemic effect of cinnamon and cumin seed powder on type 2 diabete. *Indian Journal of Nutrition*, 41(9), 370-374.
16. Awad, E., Austin, B. and Lyndon, A. 2012. Effect of dietary supplements on

26. Cohen, T., Gertler, A. and Birk, Y. 1981. Pancreatic proteolytic enzymes from carp (*Cyprinus carpio*) II. Kinetic properties and inhibition studies of trypsin, chymotrypsin and elastase. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 69(3), 647-653.
27. Demirci, B., Kıyan, T. and Baser, K.H.C. 2008. Chemical composition of volatile oil of *Hypericum hircinum* L. *J. Scient. Phytother, Fitomed Turkey*, 2(6), 52.
28. Dhandapani, S., Subramanian, V. R., Rajagopal, S. and Namasivayam, N. 2002. Hypolipidemic effect of *Cuminum cyminum* L. on Alloxan -Induced diabetic rats. *Pharmacological Research*, 46(3), 251-255.
29. Enache, I., Cristea, V., Ionesco, T., Dediu, L. and Docan, A. 2012. The influence of intensity on the growth performance of common carp in a recirculating aquaculture system condition. *University of agricultural sciences and veterinary medicine Iasi*.
30. FAO, F. 2012. *Statistical Yearbook 2013: World Food and Agriculture*. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), Rome.
31. Fraisse, M., Woo, N., Noailac-Depeyre, J. and Murat, J. 1981. Distribution pattern of digestive enzyme activities in the intestine of the catfish (*Ameiurus nebulosus* L.) and of the carp (*Cyprinus carpio* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 70(3), 443-446.
32. Fukushima, M. and Nakano, M. 1995. Effects of the Lipid-Saccharide Complex and Unsaponifiable Matter from Sunflowers on Liver Lipid Metabolism and Intestinal Flora in Rats, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 59, 860-863.
33. Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, S.A. and Rasooli, I. 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102, 898-904.
34. Gisbert, E., Giménez, G., Fernández, I., Kotzamanis, Y. and Estévez, A. 2009. digestive enzymes and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of American Science*, 8(12), 858-864.
17. Azu, N.C. and R.A. Onyeagba, 2007. Antimicrobial of extract of *Allium cepa* (onion) and Zingiber, *Bacillum subtilis*. *International Journal of Tropical Medicine*, 3, 1-4.
18. Badary, O.A., Al-Shabanah, O.A., Nagi, M.N., Al-Bekairi, A.M. and Elmazar, M. 1998. Acute and subchronic toxicity of thymoquinone in mice. *Drug Development Research*, 44(2-3), 56-61.
19. Bandaranayake, W.M. 2006. Quality control, screening, toxicity and regulation of herbal drugs. *Modern phytomedicine: turning medicinal plants into drugs*: 25-58.
20. Bélanger, F., Blier, P. and Dutil, J.D. 2002. Digestive capacity and compensatory growth in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 26(2), 121-128.
21. Bettaieb, I., Knioua, S., Hamrouni, I., Limam, F. and Marzouk, B. 2011. Water-deficit impact on fatty acid and essential oil composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) aerial parts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(1), 328-334.
22. Bhosale, S., Bhilave, M. and Nadaf, S. 2010. Formulation of fish feed using ingredients from plant sources. *Research Journal of Agricultural Sciences*, 1(3), 284-287.
23. Blier, P., Bergeron, R. and Montigny, C. D. 1997. Selective activation of postsynaptic 5-HT 1A receptors induces rapid antidepressant response. *Neuropsychopharmacology*, 16(5), 333-338.
24. Buchanan, N.P., Hott, J.M., Cutlip, S.E., Rack, A.L., Asamer, A. and Moritz, J.S. 2008. The Effects of a natural antibiotic alternative and a natural growth promoter feed additive on broiler performance and carcass quality. *Journal of Applied Poultry Research*, 17, 202-10.
25. Cahill, M.M. 1990. Bacterial flora of fishes: a review. *Microbial ecology*, 19(1), 21-41.

- microsatellite and mitochondrial DNA markers. *Aquatic Living Resources*, 16(05), 421-431.
43. Krogdahl, Å., Lea, T.B. and Olli, J.J. 1994. Soybean proteinase inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acid digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 107(1), 215-219.
 44. Lee, H.S. 2005. Cuminaldehyde: aldose reductase and α -glucosidase inhibitor derived from *Cuminum cyminum* L. seeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(7), 2446-2450.
 45. Lemieux, H., Blier, P. and Dutil, J.D. 1999. Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*)? *Fish Physiology and Biochemistry*, 20(4), 293-303.
 46. Letelier, M., Repetto, Y., Aldunate, Y. and Morello, A. 1985. Acid and alkaline phosphatase activity in *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 81(1), 47-51.
 47. Mahmood, A., Yamagishi, F., Eliakim, R., DeSchryver-Kecsckemeti, K., Gramlich, T. and Alpers, D. 1994. A possible role for rat intestinal surfactant-like particles in transepithelial triacylglycerol transport. *Journal of Clinical Investigation*, 93(1), 70.
 48. Meral, I., Donmez, N., Baydas, B., Belge, F. and Kanter, M. 2004. Effect of *Nigella sativa* L. on heart rate and some haematological values of alloxan-induced diabetic rabbits. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*, 31(1), 49-53.
 49. Milan, K., Dholakia, H., Tiku, P.K. and Vishveshwaraiah, P. 2008. Enhancement of digestive enzymatic activity by cumin (*Cuminum cyminum* L) and role of spent cumin as a bionutrient. *Food Chemistry*, 110(3), 678-683.
 50. Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A. and Rodwell, V.W. 1991. *The text book of Harper's biochemistry*. 22nd Appleton and Large, Los Altos, California.
 51. Nair, S. C., Salomi, M., Panikkae, B. and Panikkar, K. 1991. Modulatory effects of Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. *Aquaculture*, 287(3), 381-387.
 35. Gopalan, C., Rama Sastri, B. and Balasubramanian, S. 1989. *Nutrient Composition of Indian Foods*. National Institute of Nutrition, ICMR, Hyderabad.
 36. Harikrishnan, R., Balasundaram, C. and Heo, M.S. 2011. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317(1), 1-15.
 37. Hashemi, S.R., Zulkifli, I., Zunita, Z., Hair-Bejo, M., Loh, T.C. and Somchit, M.N. 2009. Effects of dietary supplementation with *Euphorbia hirta* and acidifier on performance and Salmonella colonization in broiler chickens. *Proceedings of the 30th Malaysia Society of Animal Production Annual Conference*, 2-5 June, Kota Kinabalu, Malaysia; pp: 69-70.
 38. Hendriks, H., Van den Ingh, T., Krogdahl, Å., Olli, J. and Koninkx, J. 1990. Binding of soybean agglutinin to small intestinal brush border membranes and brush border membrane enzyme activities in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 91(1), 163-170.
 39. Jagtap, A. and Patil, P. 2010. Antihyperglycemic activity and inhibition of advanced glycation end product formation by *Cuminum cyminum* in streptozotocin induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8), 2030-2036.
 40. Klahan, R., Areechon, N., Yoonpundh, R. and Engkagul, A. 2009. Characterization and activity of digestive enzymes in different sizes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 43, 143-153.
 41. Kochhar, K.P. 2008. Dietary spices in health and diseases-II. *Indian Physiology and Pharmacology*, 52, 106-122.
 42. Kohlmann, K., Gross, R., Murakaeva, A. and Kersten, P. 2003. Genetic variability and structure of common carp (*Cyprinus carpio*) populations throughout the distribution range inferred from allozyme,

- Pseudomonas fluorescens* Bacterin. Life Science Journal, 2, 10.
60. Saikia, S.K., and Das, D.N. 2009. Feeding ecology of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in a rice–fish culture system of the *Apatani plateau* (Arunachal Pradesh, India). *Aquatic ecology*, 43(2), 559-568.
 61. Sharifi, S.D., Khorsandi, S.H., Khadem, A.A., Salehi, A. and Moslehi, H. 2013. The effect of four medicinal plants on the performance, blood biochemical traits and ileal microflora of broiler chicks. *Veterinary Archive*, 83(1), 69-80.
 62. Singh, G., Kapoor, I.P., Pandey, S.K., Singh, U.K. and Singh, R.K. 2002. Studies on essential oils: part 10; antibacterial activity of volatile oils of some spices. *Phytotherapy Research*, 16(7), 680–682.
 63. Sknoberg, D.I., Yogev, L., Hardy, R.W. and Dong, F.M. 1997. Metabolic response to dietary phosphorus intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 157(1), 11-24.
 64. Srinivasan, K. 2005. Plant foods in the management of diabetes mellitus: spices as beneficial antidiabetic food adjuncts. *International journal of food sciences and nutrition*, 56(6), 399-414.
 65. Sugita, H., Kawasaki, J. and Deguchi, Y. 1997. Production of amylase by the intestinal microflora in cultured freshwater fish. *Letters in Applied Microbiology*, 24(2), 105-108.
 66. Talpur, N., and Echard, B. 2005. Effect of a novel formulation of essential oil on glucose – insulin metabolism. *Diabetes Obesity Metabolism*, 7(2), 193-99.
 67. Tietz, N.W., 1976. *Fundamentals of Clinical Chemistry* Philadelphia, W.B. Saunders, 299.
 68. Tietz, N. and Shuey, D. 1993. Lipase in serum--the elusive enzyme: an overview. *Clinical chemistry*, 39(5), 746-756.
 69. Traber, P.G., Yu, L., Wu, G.D. and Judge, T.A. 1992. Sucrase-isomaltase gene expression along crypt-villus axis of human small intestine is regulated at level of mRNA abundance. *American Journal of Physiology*, 262(1 Pt 1), G123-G130.
 70. Troca, D.F.A. and Vieira, J.P. 2012. Potential invasive non-native fish farmed *Crocus sativus* and *Nigella sativa* extracts on cisplatin-induced toxicity in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 31(1), 75-83.
 52. Nya, E.J. and Austin, B. 2011. Dietary modulation of digestive enzymes by the administration of feed additives to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. *Aquaculture Nutrition*, 17(2), e459-e466.
 53. Papoutsoglou, E.S. and Lyndon, A.R. 2003. Distribution of α -amylase along the alimentary tract of tow Mediterranean fish species, the parrotfish *Sparisoma cretense* L. and the stargazer, *Uranoscopus scaber* L. *Mediterranean Marine Science*, 4(2), 115-124.
 54. Platel, K. and Srinivasan, K. 1996. Influence of dietary spices or their active principles on digestive enzymes of small intestinal mucosa in rats. *International journal of food sciences and nutrition*, 47(1), 55-59.
 55. Platel, K. and Srinivasan, K. 2004. Influence of dietary spices and their active principles on pancreatic digestive enzymes in albino rats. *Food/Nahrung*, 44(1), 42-46.
 56. Platel, K., Rao, A., Saraswathi, G. and Srinivasan, K. 2002. Digestive stimulant action of three Indian spice mixes in experimental rats. *Food/Nahrung*, 46(6), 394-398.
 57. Rahimi Yadkooi, N., Zanguee, N., Mousavi, S.M., and Zakeri, M. 2015. Effects of Ginger (*Zingiber officinale*) Extract on Digestive Enzymes and Liver Activity of *Mesopotamichthys sharpeyi* Fingerlings, *Journal of the Persian Gulf (Marine Science)*, 6 (19), 1-10.
 58. Rungruangsak-Torrissen, K., Moss, R., Andresen, L., Berg, A. and Waagbø, R. 2006. Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 32(1), 7-23.
 59. Saad, T., Abou El-Geit, E., El-Hammady, A. and Mona, S. 2013. Effect of Black Cumin Seeds (*Nigella Sativa*) and/or Turmeric (Curcumin) on Hematological, Biochemical and Immunological Parameters of Sea Bass Vaccinated with

- and substrate utilization in Japanese women. *British Journal of Nutrition*, 80(06), 503-510.
74. Zaoui, A., Cherrah, Y., Alaoui, K., Mahassine, N., Amarouch, H. and Hassar, M. 2002a. Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *Journal of ethnopharmacology*, 79(1), 23-26.
 75. Zaoui, A., Cherrah, Y., Lacaille-Dubois, M., Settaf, A., Amarouch, H. and Hassar, M. 2000b. Effets diurétiques et hypotenseurs de *Nigella sativa* chez le rat spontanément hypertendu. *Thérapie*, 55(3), 379-382.
 76. Zargari, A. 1997. *Medical plants*. Tehran: Institute of Tehran University Publications and Printing 4: 24-52.
 - in the coastal region of Rio Grande do Sul, Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 38(2), 109-120.
 71. Uni, Z., Ganot, S. and Sklan, D. 1998. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poultry Science*, 77(1), 75-82.
 72. Yılmaz, S., Ergün, S. and Soytaş, N. 2013. Dietary supplementation of cumin (*Cuminum cyminum*) preventing streptococcal disease during first-feeding of Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of BioScience and Biotechnology*, 2, 117-124.
 73. Yoshioka, M., St-Pierre, S., Suzuki, M. and Tremblay, A. 1998. Effects of red pepper added to high-fat and high-carbohydrate meals on energy metabolism