مجله بوم شناسی آبزیان

Journal homepage: http://jae.hormozgan.ac.ir

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:08 +0430 on Friday May 25th 2018

ارزیابی پیش‌بالینی استفاده از عصاره گل ختمی (*Althaea officinalis* L.) بر فعالیت برخی از آنزیم‌های هپاتوپانکراسی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*)

وحید سلیمانی، مهدی بنایی*، محمد محیسنی، بهزاد نعمت‌دوست حقی، لاله موسوی ده‌موردی

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء (ص)، بهبهان

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ٩٣/٠٥/١٧
اصلاح: ٩٣/٠٩/٢٠
پذیرش: ٩٣/١٠/١١

کلمات کلیدی:
آلفا آمیلاز
تریپسین
گل ختمی
لیپاز
ماهی کپور

چکیده

در این مطالعه تأثیر تجویز عصاره گل ختمی (*Althaea officinalis* L.) در غلظت صفر (کنترل)، ٢/٥ ، ٥ و ١٠ گرم بر فعالیت برخی از آنزیم‌های هپاتوپانکراسی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*) نظیر آلفا آمیلاز، لیپاز و تریپسین در طی ٦٠ روز بررسی شده است. تغذیه ماهی‌ها با جیره غذایی حاوی عصاره گل ختمی تأثیری بر شاخص سیری و نیز شاخص کبدی ماهی‌های کپور نداشت. سطح آنزیم آمیلاز و لیپاز در ماهی‌های تحت تیمار ١٠ گرم عصاره گل ختمی به‌طور معنی‌داری (P<٠/٠٥) کاهش یافت. اگرچه در روز ٣٠، سطح آنزیم آمیلاز در ماهی‌های تحت تیمار ٥ گرم عصاره به طور معنی‌داری (P<٠/٠٥) افزایش یافت اما سطح آنزیم تریپسین به طور معنی‌داری کاهش یافت. تجویز عصاره گل ختمی سبب کاهش معنی‌دار (P<٠/٠٥) سطح آنزیم لیپاز پانکراسی در روز ٣٠ آزمایش گردید. اگرچه تغییر معنی‌داری در سطح آنزیم تریپسین پانکراسی در روز ٦٠ مشاهده نگردید، اما سطح آنزیم آمیلاز پانکراسی در ماهی‌هایی که با ٢/٥ گرم عصاره گل ختمی تغذیه شدند به‌طور معنی‌داری (P<٠/٠٥) بیشتر از ماهی‌های گروه کنترل بود. براساس نتایج، وجود ترکیبات پلی‌ساکاریدی در عصاره گل ختمی ممکن است عامل افزایش سطح آمیلاز پانکراسی باشد. اگرچه عصاره گل ختمی سبب کاهش لیپاز گردید، اما تأثیری بر سطح تریپسین نداشت.

مقدمــه

در راستای توسعه فارماکولوژی دامپزشکی در ایران در سال‌های اخیر، به ویژه در صنعت آبزی‌پروری و کنترل و پیشگیری از بیماری‌های آبزیان، تحقیقات گسترده‌ای بر روی گیاهان دارویی بومی به عنوان یک راهکار جدید در کاهش استفاده از داروهای سنتتیک و نیز حفظ سلامت غذایی برای مصرف‌کنندگان آغاز شده است (Banaee *et al.*, 2011). از این‌رو گیاهان متعدد دارویی بر اساس پیشینه مصرف آنها در طب سنتی و نیز خواص دارویی توسط محققین مختلف بر روی آبزیان مورد مطالعه قرارگرفته است که در بسیاری از موارد نیز کارایی آنها در پیشگیری و درمان برخی از بیماری‌های آبزیان به اثبات رسیده است (شیخ‌زاده و همکاران، ١٣٨٧؛ احمدی و همکاران، ١٣٨٩؛ قاسمی پیر بلوطی و همکاران، ١٣٩٠؛ سلطانی و همکاران، ١٣٩١؛ علیشاهی و همکاران، ١٣٩١). اگرچه در برخی از موارد محققین بر اساس الگوی درمانی گیاهان دارویی بر سایر گونه‌های جانوری، آنها را به منظور درمان بیماری‌های مختلف انگلی، باکتریایی و حتی ویروسی و قارچی در آبزیان به کار گرفته‌اند؛ اما بر اساس قواعد علم فارماکولوژی بهتر است پیش از هرگونه مطالعه بالینی و درمانی یک ترکیب جدید دارویی، از سلامت و

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: Mahdibanaee@yahoo.com

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:08 +0430 on Friday May 25th 2018

سم‌شناسی دارویی و احتمال بروز هرگونه اثر سوء جانبی ناشی از مصرف آن آگاهی لازم حاصل شود (بنایی، ۱۳۸۹؛ بنایی و همکاران، ۱۳۹۳).

گل ختمی (*Althaea officinalis*) به عنوان یک گیاه دارویی به دلیل داشتن موسیلاژ، پلی‌ساکاریدهای مختلف، آنتی‌اکسیدان‌ها، فلاونوئیدها، ترپن و تروپونوئیدهای مختلف، استرول‌های گیاهی، اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع، اسیدهای آمینه و نیز ترکیبات فنولیک و فرار (Elmastas *et al*., 2004; Wynn and Fougére, 2007; Sadighara *et al*., 2012; Tešević *et al*., 2012) و نیز ویژگی‌های ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضدویروسی (Sartoratto *et al*., 2004; Burt *et al*., 2005; Astani *et al*., 2010; Bilia *et al*., 2014; Kubiça *et al*., 2014; Abbaszadeh *et al*., 2014) و نیز خاصیت آنتی‌اکسیدانی (Jun *et al*., 2014; Ramos *et al*., 2014; Puri *et al*., 2014) می‌تواند کاندیدای دارویی مناسبی جهت استفاده در صنعت آبزی‌پروری باشد.

با این‌حال، باید این نکته را نیز مدنظر داشت که وجود برخی از ترکیبات فیتوشیمیایی با خاصیت ضد تغذیه‌ای و ویژگی‌های مهارکنندگی آنزیم‌های گوارشی در بافت‌های گیاهی (شکیبا و همکاران، ۱۳۸۶) می‌تواند از عوامل محدودکننده در استفاده از ترکیبات گیاهی در رژیم غذایی آبزیان باشد. به عنوان مثال، ترکیبات مهارکننده پروتئازها اعم از مهارکننده‌های سرین‌پروتئاز، سیستئین پروتئاز و متالوکربوکسی پروتئازی با پیشگیری از فعالیت پروتئازها از تجزیه پروتئین‌ها به‌ویژه پروتئین‌های گیاهی حاوی اسیدهای آمینه ضروری برای رشد، جلوگیری می‌کنند (شکیبا و همکاران، ۱۳۸۶). ساپونین‌ها، پلی‌فنول‌ها و ترپن‌ها (Birari and Bhutani, 2007)، سیلی‌نوزوئیدها، تری‌ترپنوئیدها (Conforti *et al*., 2012) و نیز دی‌ترپنوئیدهای (Elkhayat *et al*., 2008) دارای ویژگی‌های مهارکنندگی لیپاز پانکراسی می‌باشند و از این طریق سبب کاهش جذب چربی خواهند شد (Conforti *et al*., 2012). اثر مهارکنندگی برخی از ترکیبات فیتوشیمیایی گیاهان دارویی بر فعالیت آنزیمی آلفا آمیلاز یا آنزیم آلفا گلوکزیداز و نیز جذب گلوکز در روده نیز ثابت شده است (McCue and Shetty, 2004; Koga *et al*., 2006).

آنزیم‌های گوارشی از طریق پیشبرد واکنش‌های بیوشیمیایی بر روی مواد غذایی نقش مهمی در تأمین انرژی و متابولیت‌های حیاتی برای رشد، تکامل و دیگر فعالیت‌های زیستی ماهی‌ها بازی می‌کنند. لذا ارزیابی سطح سنتز و ترشح آنزیم‌های گوارشی شاخص بالینی و فیزیولوژیکی مهمی در تعیین سلامت سیستم گوارشی و مطالعه وضعیت تغذیه‌ای و سازگاری موجود با تغییر رژیم غذایی بوده (Gisbert *et al*., 2009) و به عنوان شاخصی از چگونگی و نرخ رشد و همچنین نرخ بازماندگی جانوران (Ma *et al*., 2005; Farhoudi *et al*., 2013) در مطالعات فارماکولوژی محسوب می‌شود.

بنابراین هدف از این مطالعه بررسی تأثیر پیش‌بالینی استفاده از عصاره گل ختمی در جیره غذایی بر فعالیت برخی از آنزیم‌های هپاتوپانکراسی ماهی کپور (*Cyprinus carpio*)، است. زیرا این ماهی یکی از مهم‌ترین گونه‌های پرورشی در مناطق مختلف کشور به ویژه استان خوزستان است و توجه به وضعیت بهداشتی و دارویی آن در مراکز پرورشی در اولویت قرار دارد. همچنین با توجه به قابلیت سازگاری بالای ماهی کپور با شرایط آزمایشگاهی، این‌گونه برای مطالعه پیش بالینی تأثیر گل ختمی در این مطالعه انتخاب‌شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی و شرایط نگهداری

۱۵۰ عدد ماهی کپور معمولی (با میانگین وزن ۴/۴۰±۳۷/۶۵ گرم و میانگین طول ۰/۸±۱۴/۱۵ سانتی‌متر) از یک مزرعه‌ی خصوصی واقع در شهرستان شوش، استان خوزستان خریداری و به آزمایشگاه تکثیر و پرورش آبزیان دانشکده‌ی منابع طبیعی دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء (ص) انتقال داده شد. پس از انتقال، ماهیان به طور تصادفی در ۱۲ مخزن فایبرگلاس هر کدام به حجم ۲۰۰ لیتری (۱۲ قطعه ماهی در هر مخزن) مجهز به هواده با تعویض روزانه ۴۰ درصدی آب توزیع گردیدند. پیش از شروع آزمایش، ماهی‌ها به مدت ۲ هفته با شرایط آزمایشگاهی دمای آب ۲±۲۴ سانتی‌گراد، دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، اکسیژن ۱±۶ میلی‌گرم بر لیتر، pH: ۰/۲±۷/۶) سازگار گردیدند. در طی دوره‌ی سازگاری ماهی‌ها با جیره‌ی تجاری کپور (تهیه‌شده از شرکت بیضا ۲۱ شیراز) به صورت دو بار در روز و معادل ۲٪ وزن بدن تغذیه شدند.

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:08 +0430 on Friday May 25th 2018

عصاره گیری از گیاه گل ختمی (*Achillea officinalis* L.)

جهت تهیه عصاره، ۱۰۰ گرم از پودر گل ختمی وزن گردید و با ۳۰۰ سی‌سی الکل اتیلیک و ۳۰۰ سی‌سی آب مقطر (به نسبت ۱ به ۱) مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار داده شد. سپس، عصاره هیدرو الکلی به وسیله کاغذ صافی، صاف شده و با قرار دادن در انکوباتور با دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد، تغلیظ و در نهایت عصاره خشک تهیه گردید.

آزمایش نهایی

آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تیمار آزمایشی و ۱ گروه کنترل، شامل ماهی‌های تحت تیمار با غذای تجاری غنی‌شده توسط عصاره هیدرو الکلی گل ختمی در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ درصد به ازای هر کیلوگرم غذای تجاری و هر یک با ۳ تکرار انجام گرفت. ماهی‌ها روزانه ۲ بار و معادل ۲٪ وزنی با جیره‌های غذایی فوق تغذیه شدند. پس از گذشت ۳۰ و ۶۰ روز از آغاز آزمایش، ۹ ماهی از هر تیمار به‌صورت تصادفی صید و پس از بیهوشی، آسان کشی گردید. سپس ماهی‌ها کالبدشکافی و بافت هپاتوپانکراس جداسازی و با سرم فیزیولوژی شستشو گردید. نمونه‌ها با استفاده از هموژنایز دستی همراه با مخلوطی از بافر فسفات (۰/۰۴۱ مول بر لیتر فسفات سدیم و ۰/۰۲۶ مول بر لیتر فسفات پتاسیم) (PBS, pH: ۷ مرک آلمان) و محلول تریتون X-100 (پلی‌اکسی اتیلن اوکتی فنیل اتر $(C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n)$ سیگما) (۰/۱ ٪) با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به نسبت ۱ به ۱۰ به مدت ۱ دقیقه هموژن گردید. پس از سانتریفیوژ نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، مایع سطحی با سمپلر جمع‌آوری و تا زمان اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

شاخص سوماتیک روده و هپاتوسوماتیک

شاخص سوماتیک روده برای برآورد میزان تغذیه ماهی‌های فاقد معده و بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{شاخص سوماتیک روده} = \frac{\text{وزن روده}}{\text{وزن کل ماهی}} \times ۱۰۰$$

شاخص هپاتوسوماتیک برای بررسی اثرات سمیت احتمالی دارو بر کبد و افزایش اندازه کبد استفاده شد و بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{شاخص هپاتوسوماتیک} = \frac{\text{وزن کبد}}{\text{وزن کل ماهی}} \times ۱۰۰$$

فاکتورهای بیوشیمیایی

فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بر اساس پیشرفت واکنش آنزیمی بر روی سوبسترای EPS-G7 و تولید گلوکز و پی- نیترو فنیل اندازه‌گیری می‌گردد. آنزیم آلفا آمیلاز، ترکیبات ۶،۴- اتیلیدن-(G7)[1]، پی- نیترو فنیل-(G1)-a[2]، دی- مالتوهپتازوئید (اتیلین-G7PNP)[3] در پلیمرهای گلوکزی و پی- نیترو فنیل اولیگوساکاریدهای کوتاه زنجیره را هیدرولیز می‌نماید. در نهایت ترکیبات تولیدشده G2PNP، G3PNP و G4PNP به وسیله آنزیم آلفا گلکوزیداز به طور کامل به گلوکز و پی- نیتروفنول هیدرولیز می‌گردد. از آنجایی‌که تغییر شدت رنگ پی- نیتروفنول نسبت مستقیمی با فعالیت آلفا آمیلاز در نمونه دارد، افزایش جذب نوری در طول موج ۴۰۵ نانومتر به وسیله اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری گردید (Moss and Henderson, 1999).

1. 4,6-ethylidene-(G7)
2. *p*-nitrophenyl-(G1)-a
3. D-maltoheptaoside (ethylidene-G7PNP)

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:08 +0430 on Friday May 25th 2018

روش تعیین سطح لیپاز بر اساس استفاده از آمولیسیون ۲،۱-O-دی‌لوریل-راک-گلیسرو-۳-گلوتاریک اسید-(۶ متیل-رزوروفین)- استر[۴] به عنوان سوبسترای لیپاز استوار است. در حضور لیپاز، این سوبسترا به ۲،۱-O-دی‌لوریل-راک-گلیسرین و گلوتاریک اسید- (۶ متیل-رزوروفین)- استر تبدیل می‌شود که به طور خود به خودی به گلوتاریک اسید و متیل رزوروفین تجزیه می‌گردد. افزایش جذب نوری در طول موج ۵۸۰ نانومتر در نتیجه تشکیل متیل رزوروفین نسبت مستقیم با سطح فعالیت لیپاز در نمونه‌ها دارد (Moss and Henderson, 1999).

فعالیت آنزیم تریپسین با استفاده از N-آلفا بنزویل دی‌ال آرژنین پی نیتروانیلید (BAPNA)[۵] به عنوان سوبسترا در طول موج ۴۱۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در این روش عصاره محلول آماده BAPNA (۱ میلی مول BAPNA در ۵۰ میلی مول بافر Tris-HCl و ۲۰ میلی مول CaCl2 با pH: ۷/۵) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. سپس تغییرات طول موج جذبی پس از ۵ دقیقه اندازه‌گیری شد (Erlanger *et al*., 1961).

از آنجایی‌که فعالیت آنزیم‌های هپاتوپانکراسی بر اساس میلی‌گرم پروتئین بافت بیان می‌شوند، سطح پروتئین تام عصاره بر اساس واکنش بیوره (Biuret test) و در طول‌موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Johnson *et al*., 1999).

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی (آلفا آمیلاز، لیپاز و پروتئین تام) با استفاده از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون و با دستگاه اسپکتروفتومتری UV/Vis (مدل ۲۱۰۰ یونیکو آمریکا) صورت گرفته است.

تجزیه و تحلیل آماری

نرمال بودن داده‌ها بر اساس آزمون Kolmogorov-Smirnov Normality Test با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22 انجام شد. تجزیه تحلیل داده‌ها به روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ (α = ۰/۰۵) صورت گرفت.

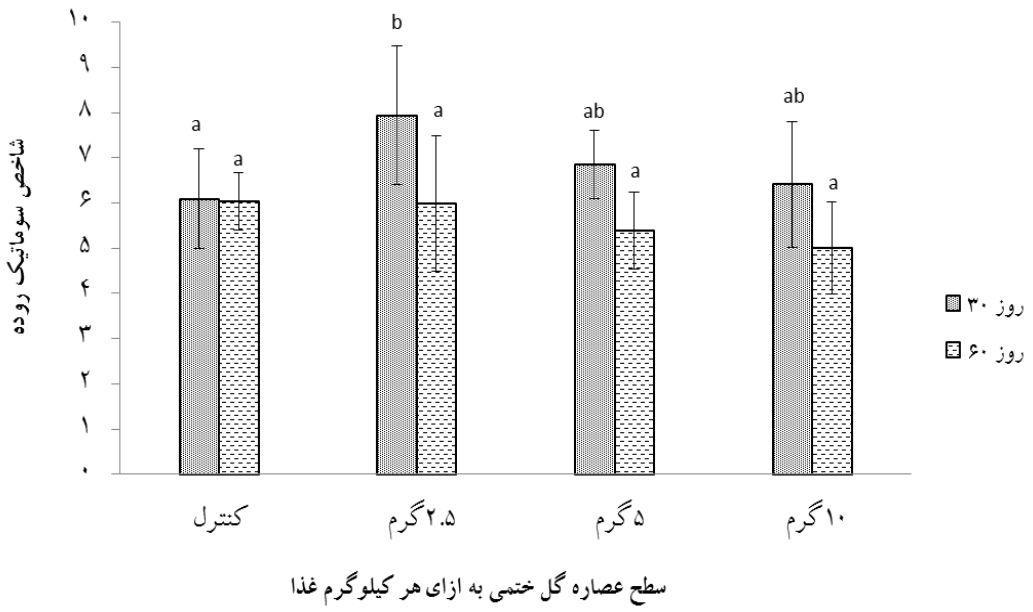
نتایــج

در طول دوره آزمایش تلفاتی در بین گروه‌های آزمایشی تحت تیمار عصاره ختمی یا گروه کنترل مشاهده نگردید. محتویات دستگاه گوارش به عنوان شاخص سیری نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین مقدار خوراک مصرف شده در ماهی‌های تحت تیمار و گروه کنترل وجود ندارد (P>۰/۰۵). ماهی‌ها نسبت به افزودن عصاره گل ختمی به جیره غذایی عکس‌العمل منفی نشان ندادند و تغییری در رفتارهای تغذیه‌ای آنها مشاهده نشد و ماهی‌های تحت تیمار گل ختمی در بازه زمانی مشابه با ماهی‌های گروه کنترل، غذا را مصرف کردند.

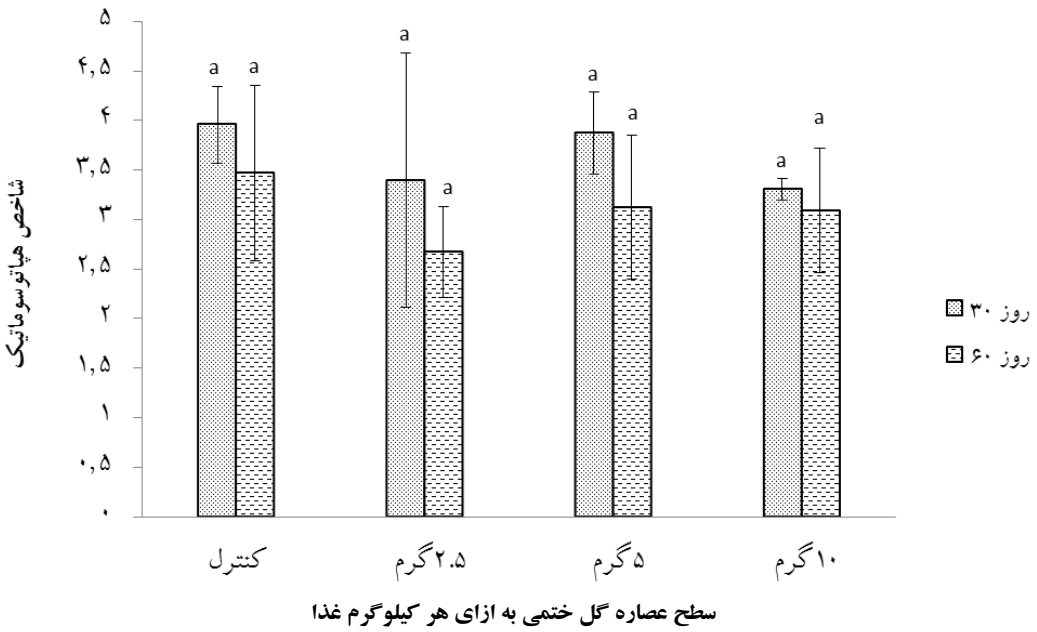
بر اساس نتایج به دست آمده، شاخص سیری در روز ۳۰ در ماهی‌هایی که با جیره حاوی ۲/۵ گرم عصاره گل ختمی تغذیه شده بودند به طور معنی‌داری افزایش (P<۰/۰۵) یافت. با این وجود تغییر معنی‌داری در شاخص سوماتیک روده ماهی‌ها در مقایسه با گروه کنترل در روز ۶۰ مشاهده نشده است (P>۰/۰۵) (شکل ۱). همچنین تغییر معنی‌داری در شاخص هپاتوسوماتیک ماهی‌ها در طول دوره آزمایش وجود نداشت (P>۰/۰۵) (شکل ۲).

4. 1,2-O-dilauryl-rac-glycero-3-glutaric acid-(6' methyl-resorufin)-ester
5. N-α-Benzoyl-DL arginine-*p*-nitroanilide (BAPNA)

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:08 +0430 on Friday May 25th 2018



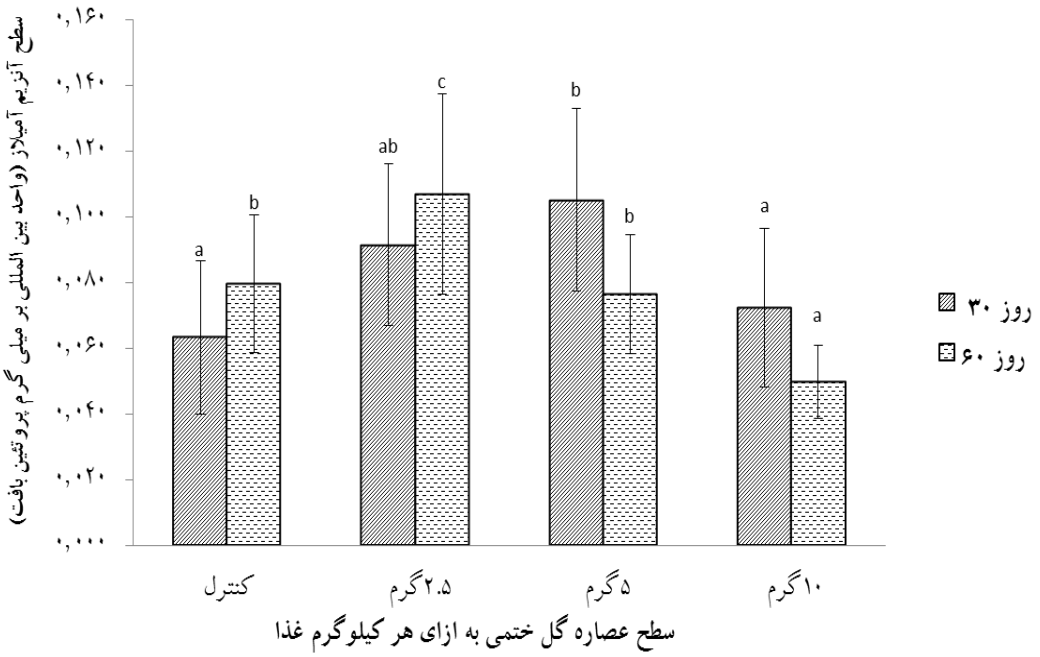
شکل ۱. شاخص سوماتیک روده ماهی‌های تحت تیمار سطوح مختلف عصاره گل ختمی



شکل ۲. شاخص هپاتوسوماتیک ماهی‌های تحت تیمار سطوح مختلف عصاره گل ختمی

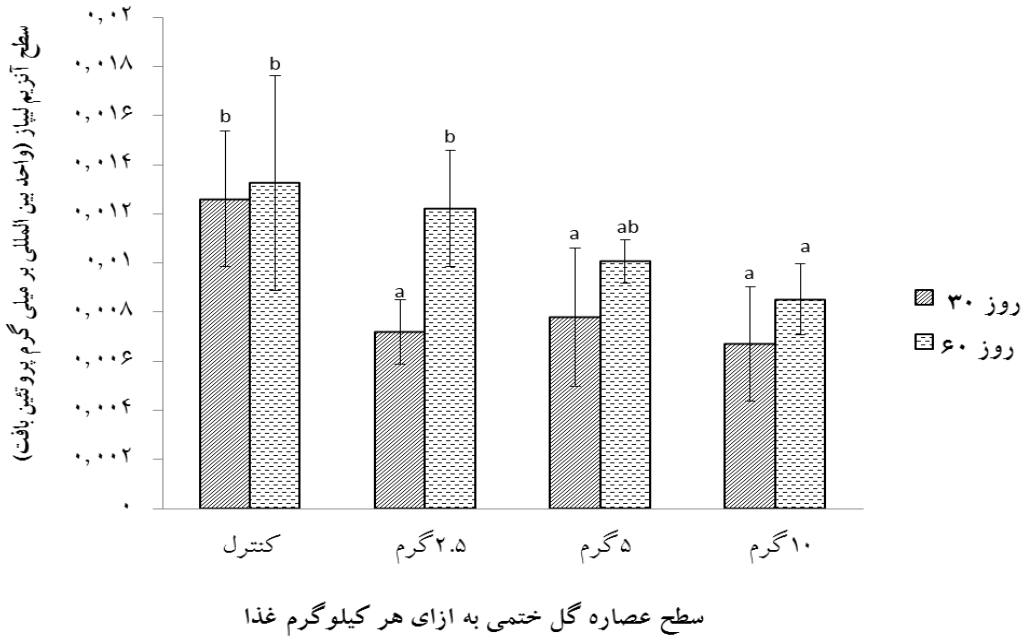
افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در سطح آنزیم آمیلاز در ماهی‌های تحت تیمار ۵ گرم عصاره گل ختمی پس از گذشت ۳۰ روز از زمان شروع آزمایش مشاهده گردید. در روز ۶۰ آزمایش، علی‌رغم افزایش معنی‌دار سطح آنزیم آمیلاز پانکراسی در ماهی‌هایی که با ۲/۵ گرم عصاره گل ختمی تغذیه شده بودند، سطح این آنزیم در ماهی‌های تحت تیمار ۱۰ گرم عصاره گل ختمی در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵) (شکل ۳).

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:08 +0430 on Friday May 25th 2018



شکل ۳. سطح آنزیم آمیلاز پانکراسی ماهی‌های تحت تیمار سطوح مختلف عصاره گل ختمی

تجویز عصاره گل ختمی سبب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) سطح آنزیم لیپاز پانکراسی در روز ۳۰ آزمایش گردید. سطح آنزیم لیپاز در روز ۶۰ آزمایش در ماهی‌هایی که با جیره حاوی ۱۰ گرم گل ختمی تغذیه شدند به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت (شکل ۴).

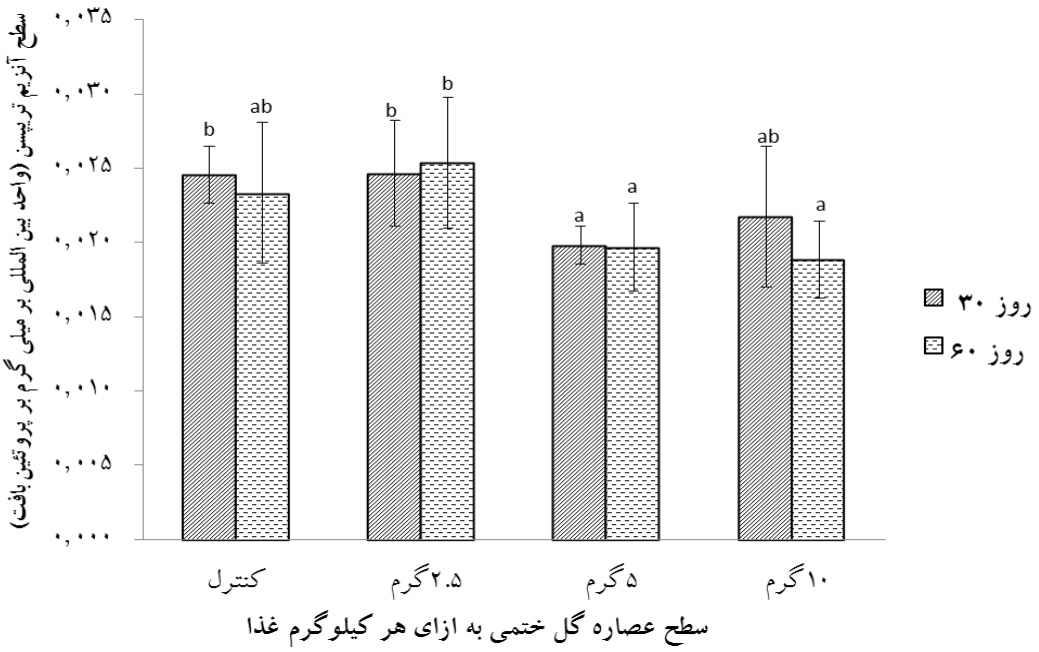


شکل ۴. سطح آنزیم لیپاز پانکراسی ماهی‌های تحت تیمار سطوح مختلف عصاره گل ختمی

.

استفاده از ۵ گرم عصاره گل ختمی در جیره غذایی ماهی کپور سبب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) سطح آنزیم تریپسین پانکراسی در روز ۳۰ آزمایش در مقایسه با گروه کنترل گردید. اگرچه تغییر معنی‌داری در سطح آنزیم تریپسین پانکراسی در بین گروه‌های آزمایشی و گروه کنترل در روز ۶۰ مشاهده نگردید (P>۰/۰۵)، اما سطح این آنزیم در ماهی‌های تحت تیمار ۵ و ۱۰ گرم عصاره گل ختمی به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کمتر از ماهی‌های تحت تیمار ۲/۵ گرم عصاره بود (شکل ۵).

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:08 +0430 on Friday May 25th 2018



شکل ۵. سطح آنزیم تریپسین پانکراسی ماهی‌های تحت تیمار سطوح مختلف عصاره گل ختمی

بحث

افزودنی‌های خوراکی با منشأ گیاهی، به جیره‌ی غذایی ماهی‌ها ممکن است از طریق تنظیم سطح سنتز و فعالیت آنزیم‌های پانکراسی، ترشحات صفراوی و نیز تحریک حس بویایی ماهی‌ها، نه تنها کارایی سیستم گوارشی بلکه اشتهای ماهی‌ها را نیز افزایش دهد (Platel *et al*., 2002). از سوی دیگر، افزودن عصاره گیاهی می‌تواند از طریق تحریک حس بویایی، بر روی توانایی ماهی‌ها در یافتن غذا تأثیر گذارد و آنها را به تغذیه بیشتر از حد نرمال تهییج نماید (Adams, 2005). بر اساس نتایج این مطالعه، افزایش معنی‌دار شاخص سیری در روز ۳۰ آزمایش در ماهی‌های تحت تیمار ۲/۵ گرم عصاره گل ختمی، ممکن است ناشی از وجود مواد محرک تغذیه‌ای در عصاره گل ختمی باشد؛ اما با افزایش نسبت عصاره گل ختمی تغییر معنی‌داری در شاخص سیری و سوماتیک روده در طول دوره آزمایش مشاهده نگردید که این امر ممکن است ناشی از افزایش تأثیر ترکیبات ضد تغذیه‌ای مانند فورفورال موجود در عصاره گل ختمی باشد که با افزایش غلظت عصاره بر تأثیر محرک تغذیه‌ای گل ختمی اثر گذاشته‌اند.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از نسبت‌های مختلف عصاره گل ختمی در جیره غذایی ماهی‌ها می‌تواند بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی پانکراسی نظیر آمیلاز، لیپاز و تریپسین تأثیر گذارد. آنزیم آمیلاز در پاسخ به حضور زنجیره پلی‌ساکاریدی، گلیکوژن و نشاسته در سیستم گوارشی لارو و ماهی‌های جوان فعال می‌شود (Krogdahl *et al*., 2005). اگرچه فعالیت آنزیم آمیلاز در ماهی‌های گوشت‌خوار بسیار اندک است (Suzer *et al*., 2008) اما فعالیت این آنزیم در ماهی‌های همه‌چیزخوار (فاقد روده) مانند کپور نسبتاً بالا است (Hidalgo *et al*., 1999). از این رو، تصور می شود که شرایط فیزیولوژیکی ماهی کپور برای استفاده از منابع گیاهی به دلیل داشتن سطوح بالای پلی‌ساکاریدها در مقایسه با ماهی‌های گوشت‌خوار بهتر باشد. بر اساس نتایج این مطالعه، افزایش سطح این آنزیم در روز ۳۰ آزمایش در ماهی‌هایی که با جیره حاوی ۵ گرم عصاره گل ختمی تغذیه شدند ممکن است به دلیل وجود پلی‌ساکاریدهای مختلف شامل ۳۵-۲۵٪ نشاسته، ۱۰٪ مونوساکاریدها و دی‌ساکارید و ساکاروز و ۵٪ موسیلاژ در عصاره گل ختمی مربوطه باشد (Al-Snafi, 2013). افزایش سطح فعالیت آمیلاز در ماهی‌های تحت تیمار عصاره گل ختمی ممکن است به وجود ۱،۸- سینول و کامفور مربوط باشد؛ زیرا این ترکیبات فیتوشیمیایی سبب افزایش سطح آلفا آمیلاز پانکراس می‌گردند (Peters *et al*., 2011; Lima *et al*., 2013). کاهش فعالیت آلفا آمیلاز در روز ۶۰ در گروه تحت تیمار ۱۰ گرم عصاره گل ختمی نیز ممکن است ناشی از تأثیر سمیت سلولی برخی از ترکیبات فیتوشیمیایی گل ختمی مانند فورفورال بر سلول‌های پانکراسی و کاهش سطح سنتز آلفا آمیلاز باشد. فورفورال یکی از ترکیبات موجود در

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:08 +0430 on Friday May 25th 2018

اسانس گل ختمی است که پس از اکسید شدن در کبد به ماده سمی پیروموسیک اسید تبدیل می‌شود (Veličković *et al*., 2011). بنابراین فورفورال ممکن است به طور غیرمستقیم سبب ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب به سلول‌های هپاتوپانکراسی ماهی‌ها گردد. Pavasovic و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده کردند که سطح فعالیت آنزیم آمیلاز در ماهی‌هایی که با جیره‌ی پایه ترکیبات گیاهی تغذیه شدند، به طور معنی‌داری افزایش یافت (Pavasovic *et al*., 2007). اگرچه افزایش سطح فعالیت آنزیم آمیلاز در موش‌های تحت تیمار زنجبیل گزارش شده است (Rao *et al*., 2003)، اما در مطالعه مشابهی تأثیر بازدارندگی زنجبیل بر فعالیت آمیلاز گزارش شده است (Akinyemi *et al*., 2010). در حقیقت تجویز گیاهان دارویی در طولانی مدت ممکن است سبب افزایش فعالیت آلفا آمیلاز گردد (Nwachuckwu and Ohiri, 2012). این در حالی است که Lopez-Lopez و همکاران (۲۰۰۵) رابطه معنی‌داری بین فعالیت آمیلاز و مقدار کربوهیدرات موجود در جیره خرچنگ دراز چنگال قرمز *Cherax quadricarinatus*، مشاهده نکردند (Lopez-Lopez *et al*., 2005).

آنزیم لیپاز وابسته به نمک‌های صفراوی۶ است و توسط پانکراس سنتز شده و به داخل دوازدهه ترشح می‌شود. این آنزیم نقش مهمی در گوارش چربی‌ها به‌ویژه تری‌گلیسرول‌ها در ماهی دارد (Murray *et al*., 2003). لذا تعیین سطح فعالیت و مطالعه‌ی روند تغییرات سطح فعالیت آنزیم لیپاز در پاسخ به سطوح مختلف و نوع چربی موجود در جیره‌ی غذایی، گویای میزان حساسیت این آنزیم به کیفیت جیره‌ی غذایی است، به نحوی‌که با افزایش میزان چربی جیره، سطح فعالیت آنزیم لیپاز افزایش یافته و به حداکثر مقدار ممکن می‌رسد، که این امر می‌تواند شاخص مناسبی برای ارزیابی حداکثر ظرفیت گوارشی چربی موجود در جیره‌ی گونه مورد مطالعه باشد (Izquierdo *et al*., 2000). کاهش سطح آنزیم لیپاز در ماهی‌های تحت تیمار گل ختمی در روز ۳۰ آزمایش ممکن است ناشی از وجود ترکیبات بازدارنده فعالیت لیپاز در عصاره این گیاه باشد. وجود ترکیبات بازدارنده فعالیت آنزیم لیپاز در عصاره بسیاری از گیاهان و جلبک‌های دریایی (Kobayashi *et al*., 2008a; Kobayashi *et al*., 2008b; Slanc *et al*., 2009; Gholamhoseinian *et al*., 2010; Harach *et al*., 2010; Mizutani *et al*., 2010; Lee *et al*., 2010)، عصاره قارچ‌ها (Tsujita *et al*., 2007) و برخی از ترکیبات شیمیایی نظیر پلی‌ساکاریدها (Tsujita *et al*., 2003)، پلی‌لیزین (Tsujita *et al*., 2003)، گزارش شده است. وجود ترکیبات بازدارنده لیپاز پانکراسی در بسیاری از گیاهان دارویی می‌تواند جذب چربی‌ها را در روده محدود کند که از این ویژگی غالباً در علم فارماکولوژی برای ساخت داروهای کاهش چربی خون بهره گرفته می‌شود (Gholamhoseinian *et al*., 2010). لذا می‌توان چنین اذعان کرد که تأثیر بسیاری از گیاهان دارویی بر سطح تری‌گلیسرید خون ممکن است به پتانسیل این گیاهان در ممانعت از فعالیت آنزیم لیپاز پانکراسی مربوط باشد (Slanc *et al*., 2009). استفاده از پروتئین سویا به جای پودر ماهی سبب کاهش معنی‌دار سطح آنزیم لیپاز در تاس‌ماهی آمور (*Acipenser schrenckii*) گردید (Xu *et al*., 2012). پایین بودن سطح فعالیت آنزیم لیپاز در روده ماهیان تیلاپیایی که با جیره غذایی گیاهی تغذیه شده بود نیز گزارش شده است (Tengjaroenkul *et al*., 2000).

مهارکننده تریپسین پانکراسی یک سرین پروتئاز است که در اغلب گیاهان یافت می‌شود (شکیبا و همکاران، ۱۳۸۶). نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان می‌دهد که حتی در صورت وجود ترکیبات بازدارنده تریپسین در عصاره گل ختمی، مقادیر آن بسیار کمتر از حدی است که بتواند تأثیر معنی‌داری بر فعالیت این آنزیم داشته باشد. استفاده از پروتئین سویا، یونجه و گلوتن ذرت به جای پودر ماهی در رژیم غذایی موجب افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیکی در سیستم گوارشی ماهی تیلاپیا گردید (González-Félix *et al*., 2009). در حالی‌که استفاده از پروتئین لوپین به جای پودر ماهی در رژیم غذایی خرچنگ دراز چنگال قرمز *Cherax quadricarinatus*، سبب کاهش پروتئاز کل در سیستم گوارشی این جانوران گردید (Pavasovic *et al*., 2007). کاهش سطح فعالیت آنزیم تریپسین می‌تواند سبب کاهش بهره‌وری ماهی‌ها از پروتئین موجود در جیره و کاهش رشد شود.

به طور کلی تغذیه ماهی‌ها با جیره غذایی حاوی عصاره گل ختمی تأثیری بر شاخص سیری و نیز شاخص کبدی ماهی‌های کپور نداشت. اگرچه، وجود ترکیبات پلی‌ساکاریدی در عصاره گل ختمی سبب افزایش سطح آمیلاز پانکراسی گردید. استفاده از عصاره گل ختمی در جیره غذایی ماهی کپور سبب کاهش سطح لیپاز پانکراسی گردید؛ در حالی‌که تأثیری بر سطح تریپسین پانکراسی نداشت.

6. Bile salt - activated Lipase

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:08 +0430 on Friday May 25th 2018

تشکر و قدردانی

این تحقیق با پشتیبانی مالی دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء (ص) بهبهان انجام گرفته است. به این وسیله نویسندگان مقاله از مسئولین محترم تحصیلات تکمیلی دانشگاه و معاونت محترم آموزشی و پژوهشی دانشکده منابع طبیعی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابــع

احمدی، ک.، وثوقی، ع. آ.، میر واقفی، ع. ر.، عطایی مهر، ب.، بنایی، م. ۱۳۸۹. تأثیر عصاره خوراکی گیاه دارویی خارمریم (*Silybum mariamum*) بر برخی از فاکتورهای ایمنی غیراختصاصی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز. سال دوم، شماره ۷، صفحات ۲۶-۱۹.

بنایی، م. ۱۳۸۹. تأثیر سیلی مارین در کاهش استرس اکسایشی ایجاد شده ناشی از سمیت زیر کشنده دیازینون در ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). رساله دکتری. دانشکده منابع طبیعی. دانشگاه تهران. ۱۴۹ ص.

بنایی، م.، نعمت دوست‌حقی، ب.، سلیمانی، و.، فلاح‌پور، ف.، محیسنی، م. ۱۳۹۳. ارزیابی پیش بالینی تجویز خوراکی نسبت‌های مختلف عصاره گل ختمی (*Althaea officinalis* L.) بر فاکتورهای بیوشیمیایی خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله بوم شناسی آبزیان. سال چهارم، شماره ۳، صفحات ۲۶-۲۰.

سلطانی، م.، ظریف‌منش، ط.، ذریه‌زهرا، س. ج. ۱۳۹۱. مطالعه تاثیر آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر میزان فعالیت سیستم عامل مکمل و لیزوزیم خون ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Onchorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران. سال بیست و یکم، شماره ۴، صفحات ۲۲-۱۳.

شکیبا، ی. ا.، مصطفایی، ع.، پروانه، ش. ۱۳۸۶. خالص سازی پروتئین مهارکننده تریپسین نوع کونیتز از دانه سویا با کروماتوگرافی میل ترکیبی. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان. سال دوازدهم، شماره ۲، صفحات ۸۳-۷۷.

شیخ زاده، ن.، سلطانی، م.، ابراهیم زاده موسوی، ح. ع.، خسروی، ع. ر.، باقری، ه.، فتحی، ع. آ.، زرگر، آ. ۱۳۸۷. مطالعه اثر اسانس اوکالیپتوس (*Eucalyptus globules*) بر برخی فاکتورهای ایمنی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی. سال شصت و چهارم، شماره ۱، صفحات ۵۴-۴۷.

علیشاهی، م.، سلطانی، م.، مصباح، م.، زرگر، آ. ۱۳۹۱. اثرات تحریک ایمنی و رشد لوامیزول، ارگوسان و سه عصاره گیاهی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله تحقیقات دامپزشکی. سال شصت و هفتم، شماره ۲، صفحات ۱۴۲-۱۳۵.

قاسمی پیر بلوطی، ع.، پیرعلی، آ.، پیشکار، غ. ر.، جلالی، س. م. ع.، رییسی، م.، جعفریان دهکردی، م.، حامدی، ب. ۱۳۹۰. اثر اسانس چند گیاه دارویی بر سیستم ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*). فصل نامه داروهای گیاهی. سال دوم، شماره ۲، صفحات ۱۵۵-۱۴۹.

Abbaszadeh, S., Sharifzadeh, A., Shokri, H., Khosravi, A.R., Abbaszadeh, A. 2014. Antifunga efficacy of thymol, carvacol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of food-relevant fungi. Journal of Medical Mycology. 24(2): 51-56.

Adams, C. 2005. Nutrition-based health. Feed International. 2: 25-28.

Akinyemi, A.J., Obon, G., Akindahunsi, A.A. 2010. Inhibitory effect of aqueous extracts of two varieties of ginger on α-amylase.α-glucosidase and acetyl cholinesterase activities. Journal of Food and Nutrition Research. 49(1): 14-20.

Al-Snafi, A.E. 2013. The Pharmaceutical Importance of *Althaea officinalis* and *Althaea rosea*: A Review. International Journal of Pharm Tech Research. 5(3): 1378-1385.

Astani, A., Reichling, J., Schnitzler, P. 2010. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. Phytotherapy Research. 24(5): 673-679.

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 (*Oncorhynchusmykiss*). Fish Physiology and Biochemistry. 37: 887-896.

Bilia, A.B., Santomauro, F., Sacco, C., Bergonzi, M.C., Donata, R. 2014. Essential oil of *Artemisia annua* L., an extraordinary component with numerous antimicrobial properties. Hindawi Publishing Coporation. Evidence-Based Complemetary and Alternative Medicine ID: 159819. 7 p.

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:08 +0430 on Friday May 25th 2018

Birari, R.B., Bhutani, K.K. 2007. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. Durg Discovery Today. 12: 879-889.

Burt, S.A., Vlielander, R., Haagsman, H.P., Veldhuizen, E.J.A. 2005. Increase in activity of essential oil components carvacrol and thymol against Escherichia coli O157: H7 by addition of food stabilizers. Journal of Food Protection. 68(5): 919-926.

Conforti, F., Perri, V., Menichini, F., Marrelli, M., Uzunov, D., Statti, G.A., Menichini, F. 2012. Wild Mediterranean dietary plants as inhibitors of pancreatic lipase. Phytotherapy Research. 26(4): 600-604.

Elkhayat, E.S., Ibrahim, S.R., Aziz, M.A. 2008. Portulene, a new diterpene from *Portulaca oleracea* L. Journal of Asian Natural Producte Research.10:1039-1043

Elmastas, M., Ozturk, L., Gokce, I., Erenler, R., Aboul-Enein, H.Y. 2004. Determination of antioxidant activity of marshmallow flower (*Althaea officinalis* L.). Bioanalytical. 37(9): 1859-1869.

Erlanger, B.F., Kokowski, N., Cohen, W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. Archives of Biochemistery and Biophysics. 95: 271-278.

Farhoudi, A., Abedian Kenari, A.M., Nazari, R.M., Makhdoomi, C. 2013. Changes of digestive enzymes activity in common carp (*Cyprinus carpio*) during larval ontogeny. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 12(2): 320-334.

Gholamhoseinian, A., Shahozehi, B., Sharifi-far, F. 2010. Inhibitory effects of some plant extracts on pancreatic lipase. International Journal of Pharmacology. 6: 18-24.

Gisbert, E., Giménez, G., Fernández, I., Kotzamanis, Y., Estévez, A. 2009. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. Aquaculture. 287: 381-387.

González-Félix, M.L., Castillo-Yanez, F.J., Ocaño-Higuera, V.M., Perez-Velazquez, M., Cota-Moreno, V., Lozano-Taylor, J. 2009. Effect of dietary protein source and time on alkaline proteolytic activity of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish Physiology and Biochemistry. 10: 1-7.

Harach, T., Aprikian, O., Monnard, I., Moulin, J., Membrez, M., Beolor, J.C., Raab, T., Mace, K., Darimont, C. 2010. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract limits weight gain and liver steatosis in mice fed a high-fat diet. Planta Medica. 76: 566-571

Hidalgo, M.C., Urea, E., Sanz, A. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. Aquaculture. 170: 267-283.

Izquierdo, M.S., Socorro, J., Arantzamendi, L., Hernández-Cruz, C.M. 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. Fish Physiology and Biochemistry. 22: 97-107.

Johnson, A.M., Rohlfs, E.M., Silverman, L.M. 1999. Proteins. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (eds.), Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company. pp. 477-540.

Jun, H.J., Lee, J.H., Kim, J., Jia, Y., Kim, K.H., Hwang, K.Y., Yun, E.J., Do, K.R., Lee, S.L. 2014. Linalool is a PPARα ligand that reduces plasma TG levels and rewires the hepatic transcriptome and plasma metabolome. Journal of Lipid Research. 55: 1098-1110.

Kobayashi, K., Ihara, S., Kobata, A., Itoh, K., Kusunoki, N., Yoshizaki, F. 2008a. Inhibitory effect of Myrica bark on lipase activity in mouse plasma and gastrointestinal tract. Journal of Medical Food. 11: 289-293.

Kobayashi, K., Yamada, K., Murata, T., Hasegawa, T., Takano, F., Koga, K. 2008b. Constituents of Rhodiola rosea showing inhibitory effect on lipase activity in mouse plasma and alimentary canal. Planta Medica. 74: 1716-1719.

Koga, K., Shibata, H., Yoshino, K., Nomoto, K. 2006. Effects of 50% ethanol extract from rosemary (Rosmarinus officinalis) on alpha glucosidase inhibitory activity and the elevation of plasma glucose level in rats, and its active compound. Journal of Food Science. 71: S507-S512.

Krogdahl, Å., Hemre, G.I., Mommsen, T.P. 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in post larval stages. Aquaculture Nutrition. 11: 103-122.

Kubiça, T.F., Alves, S.H., Weiblen, R., Lovato, L.T. 2014. In vitro inhibition of the bovine viral diarrhea virus by the essential oil of *Ocimum basilicum* (basil) and monoterpenes. Brazilian Journal of Microbiology. 45(1): 209-214.

Lee, J.K., Song, J.H., Lee, J.S. 2010. Optimal extraction conditions of anti-obesity lipase inhibitor from *Phellinus linteus* and nutritional characteristics of the extracts. Mycobiology. 38: 58-61.

Lima, P.R, de Melo, TS., Carvalho, K.M.M.B., de Oliveira, Í.B., Arruda, B.R., de Castro Brito, G.A., Rao, V.S., Santos, F.A. 2013. 1,8-cineole (eucalyptol) ameliorates cerulein-induced acute pancreatitis

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:08 +0430 on Friday May 25th 2018

via modulation of cytokines, oxidative stress and NF-κB activity in mice. Life Sciences. 92: 1195–1201.

Lopez-Lopez, S., Nolasco, H., Villarreal-Colmenares, H., Civera-Cerecedo, R. 2005. Digestive enzyme response to supplemental ingredients in practical diets for juvenile freshwater crayfish Cherax quadricarinatus. Aquaculture Nutrition. 11: 79-85.

Ma, H., Cahu, C., Zambonino, J., Yu, H., Duan, Q., Le Gall, M.M., Mai, K. 2005. Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Aquaculture. 254: 239-248.

McCue, P.P., Shetty, K. 2004. Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase in vitro. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition. 13: 101106.

Mizutani, T., Inatomi, S., Inazu, A., Kawahara, E. 2010. Hypolipidemic effect of *Pleurotus eryngii* extract in fat-loaded mice. Journal of Nutritional Science and Vitaminology. 56: 48-53.

Moss, D.V., Henderson, A.R. 1999. Clinical enzymology. In: Burtis, C.A., Ashwood, E.R. (eds.). Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company. pp. 617-721.

Murray, H.M., Gallant, J.W., Perez-Casanova, Johnson, S.C., Douglas S.E. 2003. Ontogeny of lipase expression in winter flounder. Journal of Fish Biology. 62: 816-833.

Nwachuckwu, N., Ohiri, R.C. 2012. Effect of chronic intake of *Zingiber officinale* (ginger) enriched diet on the gastrointestinal sections of albino rats. African Journal of Food Science. 6(12): 330-334.

Pavasovic, A., Anderson, A.J. Mather, P.B., Richardson, N.A. 2007. Effect of a variety of animal, plant and single cell-based feed ingredients on diet digestibility and digestive enzyme activity in redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*. Aquaculture. 272: 564-572.

Peters, A.L., Dekker, E., Michels, W.M. 2011. Camphor poisoning following ingestion of mothballs 'for headache'. Nederlands Tijdschrift Geneeskunde Journal. 155(39): A3676.

Platel, K., Rao, A., Saraswahi, G., Srinivasan, K. 2002. Digestive stimulant action of three Indian spices mixes in experimental rats. Die Nahrung. 46: 394-398.

Puri, A., Srivastava, P., Pandey, P., Yadav, R.S., Bhatt, P.C. 2014. Scopolamine induced behavioral and biochemical modifications and protective effect of *Celastrus paniculatous* and *Angelica glauca* in rats. International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases. 4(3): 158-169.

Ramos, M., Beltrán, A., Peltzer, M., Valente, A.J.M., del Carmen Garrigós, M. 2014. Release and antioxidant activity of carvacrol and thymol from polypropylene active packaging films. LWT-Food Science and Technology. 58(2): 470-477.

Rao, R.R., Platel, K., Srinivasan, K. 2003. In vitro influence of spices and spice-active principles on digestive enzymes of rat pancreas and small intestine. Molecular Nutrition and Food Research. 47(6): 408-412.

Sadighara, P., Gharibi, S., Moghadam Jafari, A., Jahed Khaniki, G.R., Salari, S. 2012. The antioxdant and flavonoids contents of *Althaea officinalis* L. flowers based on their color. Avicenna Journal of Phytomedicine. 2(3): 113-117.

Sartoratto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueira, G.M., Duarte, M.C.T., Rehder, V.L.G. 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. Brazilian Journal of Microbiology. 35: 275-280.

Slanc, P., Doljak, B., Kreft, S., Lunder, M., Janes, D., Strukelj, B. 2009. Screening of selected food and medicinal plant extracts for pancreatic lipase inhibition. Phytotherapy Research. 23: 874-877.

Suzer, C., Coban, D., Kamaci, O.H., Saka, S., Firat, K., Otgucuoglu, O., Kucuksari, H. 2008. *Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae: Effects on growth performance and digestive enzyme activities. Aquaculture. 280: 140-145.

Tengjaroenkul, B., Smith, B.J., Caceci, T., Smith, S.A. 2000. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L. Aquaculture. 182: 317-327.

Tešević, V., Vajs, V., Lekić, S., Dordević, I., Novaković, M., Vujisić, L., Todosijević, M. 2012. Lipid composition and antioxidant activities of the seed oil from three Malvaceae Species. Archives of Biological Science Belgrade. 64(1): 221-227.

Tsujita, T., Sumiyoshi, M., Tataku, T., Momsen, W.E., Lowe, M.E., Brockman, H.L. 2003. Inhibition of lipases by C-polylysine. Journal of Lipid Research. 44: 2278–2286.

Tsujita, T., Takaichi, H., Takaku, T., Sawai, T., Yoshida, N., Hiraki, J. 2007. Inhibition of lipase activities by basic polysaccharide. Journal of Lipid Research. 48(2): 358-365.

Veličković, D., Milenković, S., Stojanović, D. 2011. Enzymochemical and biochemical changes in liver of rats induced by furfural. Acta Medica Medianae. 50(2): 34-38.

Wynn, S.G., Fougère, B.J. 2007. Veterinary herbal medicine. Mosby Elsevier St. Louis. Missouri, USA. 736 p.

Xu, Q.Y., Wang, C.A., Zhao, Z.G., Luo, L. 2012. Effects of replacement of fish meal by soy protein isolate on the growth, digestive enzyme activity and serum biochemical parameters for juvenile Amur sturgeon (*Acipenser schrenckii*). Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 25(11): 1588-1594.

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 19:08 +0430 on Friday May 25th 2018