مجله بوم شناسی آبزیان

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

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 11:33 +0430 on Monday May 24th 2021

تأثیر سطوح مختلف سیاه‌دانه جیره بر میزان کلسترول و تری گلیسرید همولنف میگوی پاسفید غربی (*Penaeus vannamei*)

محمد نیرومند[۱]، آرش اکبرزاده[۱*]، عیسی ابراهیمی درچه[۲]، سید علیرضا سبحانی[۳]، اردشیر شیخ احمدی[٤]

[۱] گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

[۲] گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

[۳] گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران

[٤] گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

نوع مقاله:
پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۹۷/۰۳/۲۶
اصلاح: ۹۷/۰۶/۱۰
پذیرش: ۹۷/۰۸/۰۵

کلمات کلیدی:
تری گلیسرید
سیاه‌دانه
کلسترول
میگو

چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی سطوح مختلف سیاه‌دانه جیره بر غلظت کلسترول و تری گلیسرید پلاسمای میگوی پاسفید غربی (*Penaeus vannamei*) انجام شد. این آزمایش در قالب پنج جیره با سطوح مختلف سیاه‌دانه شامل صفر (کنترل)، ۰/۵، ۱/۵، ۳ و ۵ درصد به طور جداگانه در پنج تیمار و هر تیمار شامل سه تکرار انجام شد و در هر تکرار ۴۰ عدد میگو (۰/۲g ± ۷/۵) ذخیره‌سازی شد. بعد از ۱۲ هفته غذادهی، سطح کلسترول و تری گلیسرید پلاسمای میگو در تیمارهایی که سیاه‌دانه مصرف کرده بودند به طور معنی‌داری از تیمار کنترل کمتر بود ($P < ۰/۰۵$). کمترین مقدار هم مربوط به تیمار حاوی ۳ درصد سیاه‌دانه بود. در مجموع جیره حاوی سیاه‌دانه می‌تواند با کمتر کردن سطح کلسترول و تری گلیسرید پلاسما، به تولید میگویی سالم‌تر کمک کند.

مقدمــه

میگوی پا سفید غربی (*Penaeus vannamei*)، مهم‌ترین گونه میگوی پرورشی است که میزان تولید آن از ۸/۸ میلیون تن در سال ۲۰۰۷ به ۱۸/۸ میلیون تن در سال ۲۰۱۵ رسیده است (FAO, 2015). دلیل افزایش تولید این گونه، میزان بازماندگی بالا، رشد سریع و مقاومت در برابر بیماری‌ها در سیستم پرورش متراکم است (Iba *et al*., 2014).

علی‌رغم تقاضای گسترده برای این میگو و بازارپسندی آن، بسیاری از افراد از خوردن آن به دلیل محتوی بالای کلسترول، خودداری می‌کنند. میزان بالای کلسترول در انسان باعث خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی، سکته و انواعی از سرطان می‌شود (NRC, 1989). یک جیره غذایی ۳۰۰ گرمی میگو، حاوی ۵۹۰ میلی‌گرم کلسترول است و باعث افزایش ۷/۱ درصدی LDL خون انسان می‌شود که این میزان به خصوص در میان افراد سالخورده نگران‌کننده است (De Oliveira *et al*., 1996). به خصوص اینکه میزان کلسترول میگوی وانامی (۳۱۸/۷۷ تا ۱۳۰/۰۹ mg/100g) بسیار بالا می‌باشد (Moura *et al*., 2013) و این سطح کلسترول غذا باعث بالا رفتن کلسترول خون انسان در سطح بسیار مضری می‌شود (Lira *et al*., 2014). بنابراین، هر

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: akbarzadeh@hormozgan.ac.ir

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 11:33 +0430 on Monday May 24th 2021

چه کلسترول میگو پایین‌تر باشد بازارپسندی آن بیشتر خواهد بود (Chen *et al.*, 2014).

برای حل این مشکل می‌توان از ترکیبات گیاهی کمک گرفت زیرا بسیاری از ترکیبات گیاهان دارای اثراتی چون ضد استرس، ضد میکروب، محرک رشد، محرک اشتها و انرژی‌زا هستند. همچنین این محصولات گیاهی، بسیار ارزان و در دسترس بوده و به آسانی مصرف می‌شوند (Gurib *et al.*, 2006). به عنوان مثال افزودن زنجبیل به غذای میگو باعث افزایش رشد و ارتقاء سطح ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها می‌شود و آرتمیای غنی شده با زنجبیل باعث افزایش رشد لاروهای میگوی مونودون می‌گردد (Venkatramalingam *et al.*, 2007) و افزودن آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) به غذای میگوی وانامی، آلودگی قارچی را از بین می‌برد (Sharif Rohani *et al.*, 2013).

از جمله گیاهان دارویی که به صورت سنتی و موفقیت آمیزی در انسان، طیور، دام، خرگوش و موش، مورد استفاده قرار گرفته ؛ سیاه‌دانه است . سیاه‌دانه با نام علمی *Nigella sativa*، یک گیاه یک ساله و متعلق به خانواده *Ranunculaceae* می‌باشد (Atta, 2003) و با نام لاتین black cumin seed شناخته می‌شود. این گیاه در خاورمیانه، شرق اروپا و غرب و مرکز آسیا رشد می‌کند (Sharififar *et al.*, 2016)؛ دانه آن تلخ و تند و دارای بافتی اسفنجی بوده، مثلثی شکل و حدود یک تا ۵ میلی‌گرم وزن دارد. این گیاه به صورت سنتی و به عنوان دارو برای درمان بسیاری از بیماری‌ها، از ۲۰۰۰ سال پیش تا کنون مورد استفاده قرار گرفته است (Zaoui *et al.*, 2002). ترکیبات شیمیایی که در سیاه‌دانه وجود دارند عبارت‌اند از: اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، فیبرها، روغن‌ها (حدود ۴۰ درصد از وزن کل)، مواد معدنی، آلکالوئیدها و ساپونین‌ها (Khoddami *et al.*, 2011). ثابت شده است که سیاه‌دانه دارای اثر ضد باکتریایی، ضد التهاب، محرک ایمنی، آنتی اکسیدانی، ضد قارچ، ضد ویروس، ضد سرطان، محرک سیستم ایمنی، ضد چاقی، ضد فشار خون و در نهایت اثر ضد چربی و به ویژه ضد کلسترول می‌باشد (Heshmati *et al.*, 2015). این گیاه دارای ترکیبات فعال زیادی همچون، تیموکوئینون، دی تیموکوئینون، فلاونوئیدها، استرول‌ها و اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد. مکانیسم‌های مختلفی در مورد اثر ضد کلسترولی سیاه‌دانه به آن نسبت داده شده است مثل اثر بازدارنده آن بر ساخت کلسترول (Al- Naqeeb *et al.*, 2010)، جلوگیری از جذب کلسترول در روده و جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌ها (Meral *et al.*, 2001).

تا کنون تحقیقات زیادی در مورد اثر سیاه‌دانه بر کاهش سطح کلسترول و تری گلیسرید در بسیاری از موجودات صورت گرفت است. به عنوان مثال (Akhtar *et al.*, 2003; Al-Beitawi and El-Ghousein., 2009) در مرغ تخم‌گذار، (Zaoui *et al.*, 2002) در موش‌ها و (Al-Naqeep *et al.*, 2011) در خرگوش‌ها نشان دادند که سیاه‌دانه سطح کلسترول و تری گلیسرید سرم خون را پایین می‌آورد. با توجه به مطالعات گسترده‌ای که در مورد اثر سیاه‌دانه بر موجودات مختلف صورت گرفته، هیچ مطالعه‌ای در خصوص اثر سیاه‌دانه بر میگوها وجود ندارد؛ لذا با توجه به اینکه پس از ورود کلسترول به همولنف، قسمت اعظم کلسترول (تا ۶۰ درصد) و متابولیت‌های آن به آرامی و طی ۱۹۲ ساعت، در ماهیچه ها یا فیله میگو ذخیره می‌شوند و بین میزان کلسترول همولنف با کلسترول فیله میگو ارتباط و همبستگی مستقیمی وجود دارد (Kanazawa *et al.*, 1988)؛ در این مطالعه اثر سطوح مختلف سیاه‌دانه بر غلظت کلسترول و تری گلیسرید همولنف، به عنوان شاخص کلسترول لاشه میگو، مورد بررسی قرار گرفت تا با این فرض که سیاه‌دانه قادر است سطح کلسترول و تری گلیسرید میگو را کاهش دهد میگویی بازار پسندتر و بدون هیچ‌گونه عوارض جانبی برای سلامت انسان، تولید کرد.

مواد و روش‌ها

تهیه جیره

سیاه‌دانه مورد نیاز برای انجام تحقیق از مزارع شهر اصفهان تهیه گردید و ترکیب تقریبی سیاه‌دانه و اجزای جیره و کل جیره‌های آزمایشی در دانشگاه صنعتی اصفهان مورد بررسی قرار گرفت (جداول شماره ۱و۲و۳). ارزیابی ترکیب تقریبی سیاه‌دانه و اجزا و کل جیره، شامل رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر بر اساس روش‌های استاندارد Association of Official

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 11:33 +0430 on Monday May 24th 2021

Analytical Chemists (AOAC, 1995) انجام شد. برای اندازه‌گیری رطوبت، مواد اولیه پس از خرد و یکنواخت شدن، در داخل پتری‌دیش‌های شیشه‌ای قرار داده شد و با استفاده از آون (Binder, USA) در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد در مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. برای اندازه‌گیری سایر ترکیبات، از نمونه‌ی خشک شده استفاده گردید. سنجش پروتئین لاشه با استفاده از دستگاه کلدال (Gerhardt, type VAP.40, Germany) و چربی لاشه با استفاده از دستگاه سوکسله (Gerhardt, type SE-416, Germany) انجام شد. برای اندازه‌گیری خاکستر لاشه، نمونه‌ها در بوته‌های چینی ریخته شد و سپس به مدت ۸ ساعت در داخل کوره‌ی الکتریکی (Nabertherm, Germany) در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی سیاه‌دانه بر حسب درصد

ترکیب تقریبی سیاه‌دانه (درصد)	ماده مرطوب	ماده خشک
پروتئین	۲۲/۳۱.	۲۳/۷۸
چربی	۳۸/۲۷	۴۰/۸۰
کربوهیدرات	۲۴/۵۵	۳۲/۲۳
رطوبت	۶/۲	۰
خاکستر	۸/۶۷	۹/۴۴
فیبر	۵/۶۸	۶/۰۶

جدول ۲. آنالیز تقریبی اجزای جیره بر حسب درصد

	ترکیب شیمیایی ماده خوراکی (درصد)				
ماده خوراکی	رطوبت	ماده خشک	پروتئین	چربی	خاکستر
پودر ماهی[۱]	۷/۵۸	۹۲/۴۲	۶۸/۷	۶/۷	۲۳/۰۲
آرد برنج[۲]	۶/۵۱	۹۳/۴۹	۵/۲	۲/۰۶	۲۴/۵۲
آرد سویا[۳]	۶/۷۳	۹۳/۲۷	۴۵/۳	۵/۴۸	۷/۲۳
آرد گندم	۹	۹۱	۱۲	۱/۲	۰/۴
پودر میگو[۲]	۸	۹۲	۳۰	۳/۲	۲۷/۲
گلوتن گندم[۴]	۹	۹۱	۵۷	۱/۸	۲/۱
بنتونیت[۵]	۶/۰۲	۹۳/۹۸	–	۰/۴۷	۹۶/۱۶
همبند[۵]	۵/۲۴	۹۴/۷۹	–	۵/۹۹	۰/۰۹
روغن ماهی[۶]	–	–	–	–	–
روغن سویا[۷]	–	–	–	–	–
مکمل معدنی[۸]	–	–	–	–	–
مکمل ویتامینه[۹]	–	–	–	–	–

۱- تهیه شده از کارخانه پودر ماهی قشم، ۲- تهیه شده از کارخانه هرمز دام بندرعباس، ۳- تهیه شده از شرکت یسنا مهر تهران، ۴- تهیه شده از شرکت فرایندهای گیاهی ورامین، ۵ – تهیه شده از شرکت کیمیا رشد، ۶ – تهیه شده از شرکت پارس کیلکا، ۷– تهیه شده از کارخانه خوراک دام آبزیان ساری، ۸– شرکت لابراتوارهای سیانس قزوین. هر ۵ کیلوگرم مکمل معدنی حاوی: ۴۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۱۲۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۶۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۰۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۵۱۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۴۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۸۰ میلی‌گرم ید و۸۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۹– تهیه شده از شرکت لابراتوارهای سیانس قزوین. هر ۵ کیلوگرم مکمل ویتامینه حاوی: ۸۰۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۲۰۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D_3، ۱۵۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۵۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین K_3، ۵۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_1، ۴۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_2، ۱۵۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_3، ۲۰۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_5، ۸۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_6، ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_9، ۵۰ میلی‌گرم ویتامین B_{12}، ۱۵۰۰ میلی‌گرم H_2، ۵۰۰۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C، ۵۰۰۰۰۰ میلی‌گرم اینوزیتول و ۱۰۰۰ میلی‌گرم BHT

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 11:33 +0430 on Monday May 24th 2021

پنج جیره غذایی در مقادیر سیاه‌دانه صفر (کنترل)، ۰/۵، ۱/۵، ۳ و ۵ درصد تنظیم گردید (جدول ۳). به این صورت که برای بالانس چربی جیره، سیاه‌دانه جایگزین روغن ماهی و سویا گردید؛ همچنین با جایگزینی سیاه‌دانه به جای مقادیر مشخص برنج و گندم، پروتئین جیره تنظیم گردید. برای تنظیم جیره نرم افزار Lindo 6.1 (USA)، مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۲). برای ساخت جیره‌ها، مواد اولیه توزین شده و به مدت ۲۰ دقیقه در میکسر به خوبی هم زده شدند و سپس آب مقطر برای تهیه یک خمیر یکنواخت، به مخلوط اضافه گردید. این مواد از چرخ گوشت با چشمه ۳ میلی متر عبور داده شدند. سپس جیره‌های غذایی به صورت جداگانه، روی پلاستیک‌های تمیز، به مدت ۴۸ ساعت در معرض باد فن قرار گرفتند. در نهایت پلت‌های غذایی در کیسه‌های زیپ‌دار نایلونی بسته‌بندی و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Arshadi *et al.*, 2016).

شرایط آزمایش

مطالعه حاضر در خرداد ماه سال ۱۳۹۵ با انتقال ۸۰۰ عدد میگوی وانامی از مزرعه پرورش میگوی اربیان طلایی، واقع در سایت تیاب شهرستان میناب به پارک زیست فناوری خلیج فارس، آغاز گردید؛ سپس میگوها به مدت سه هفته با شرایط، سازگار شده و در این مدت یک غذای عادی تجاری به آن‌ها داده شد. بعد از سازگاری، ۶۰۰ عدد میگوی سالم با وزن ۰/۲g± ۷/۵ به طور تصادفی در ۱۵ تانک گرد پلی اتیلن با ظرفیت ۲۸۰ لیتر، به تعداد ۴۰ عدد میگو برای هر تانک توزیع شدند. این آزمایش شامل ۵ تیمار آزمایشی، هر تیمار شامل سه تکرار و جمعاً ۱۲۰ عدد میگو برای هر تیمار بود. میگوها روزانه به میزان

جدول ۳ . ساختار ۵ جیره غذایی و ترکیب بیوشیمیایی آن‌ها

	جیره‌ی غذایی بر حسب درصد				
مواد غذایی	شاهد	سیاه‌دانه ۰/۵ درصد	سیاه‌دانه ۱/۵درصد	سیاه‌دانه ۳ درصد	سیاه‌دانه ۵ درصد
پودر ماهی	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰
پودر سویا	۱۹	۱۹	۱۹	۱۹	۱۹
گلوتین گندم	۹/۶	۹/۶	۹/۶	۹/۶	۹/۶
پودر میگو	۶/۴	۶/۴	۶/۴	۶/۴	۶/۴
آرد گندم	۱۷/۴	۱۷/۴	۱۷/۴	۱۷/۴	۱۷/۴
آرد برنج	۲/۶	۲/۶	۲/۶	۲/۶	۲/۶
بنتونیت	۱	۱	۱	۱	۱
همبند	۱	۱	۱	۱	۱
مکمل معدنی	۱	۱	۱	۱	۱
مکمل ویتامینه	۱	۱	۱	۱	۱
روغن ماهی و سویا[1]	۶	۵/۸	۵/۴	۴/۸	۴
سیاه‌دانه	۰	۰/۵	۱/۵	۳	۵
آرد گندم و سویا[2]	۵	۴/۷	۴/۱	۳/۲	۲
	ترکیب شیمیایی جیره‌ی غذایی (درصد)				
پروتئین	۴۰/۹۸	۳۸/۳۸	۳۹/۲۶	۳۸/۴۳	۳۸/۵۸
چربی	۱۸/۵۱	۱۹/۳۰	۱۹/۸۶	۲۱/۴۲	۲۲/۸۵
کربوهیدرات	۲۳/۲۱	۲۵/۳۴	۲۳/۲۰	۲۴/۱۰	۲۲/۲۹
فیبر	۲/۹۸	۳/۰۱	۳/۱۶	۳/۲۷	۳/۲۹
خاکستر	۱۱/۶۹	۱۱/۶۶	۱۱/۷۰	۱۰/۶۹	۱۰/۲۷
رطوبت	۵/۶۱	۵/۳۲	۵/۹۸	۵/۳۶	۶/۰۱

۱- روغن ماهی و سویا به نسبت ۲ به ۱ مورد استفاده قرار گرفتند. ۲ – مخلوط آرد گندم به سویا به نسبت ۷۰ به ۳۰ بود و میزان پروتئین آن معادل پروتئین سیاه‌دانه یعنی تقریباً ۲۲/۵ بود که برای تعادل جیره مورد استفاده قرار گرفت.

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 11:33 +0430 on Monday May 24th 2021

۴ درصد وزن بدن در چهار وعده (۰۷:۰۰، ۱۱:۰۰، ۱۵:۰۰ و۱۹:۰۰) به مدت ۱۲ هفته غذادهی شدند. تعویض آب طی ۳۰ دقیقه به آرامی و به میزان ۹۰ درصد، هر روز صبح، قبل از غذادهی انجام می‌شد و میزان غذا هر دو هفته یک بار بر اساس میانگین وزنی میگوها در هر تانک محاسبه می‌گردید. برای هوادهی در هر تانک از دو سنگ هوا استفاده شد و فاکتورهای کیفی شامل اکسیژن، pH، شوری و دما روزانه اندازه‌گیری می‌شد و میانگین مقدار آن‌ها به ترتیب ۵/۸±۰/۴ mg/l ، ۸/۱±۰/۱، ۳۶/۵±۰/۵ ppt ، ۳۲±۲Cº بود. دوره نوری نیز تقریباً شامل ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی بود. برای سنجش سطح کلسترول و تری گلیسرید، از هر تانک، سه عدد میگو انتخاب و از ناحیه بین پاهای اول و دوم حرکتی، نزدیک طناب عصبی، از آن‌ها همولنف گرفته شد (Yang *et al.*, 2014).

اندازه‌گیری میزان کلسترول و تری گلیسرید

برای گرفتن همولنف از سرنگ انسولین یک میلی‌لیتری با سوزن شماره ۲۵ و حاوی ۰/۳ میلی‌لیتر، ماده ضد انعقاد (شامل ۱۰ میلی مول Tris-HCl، ۲۵۰ میلی مول Sucrose و ۱۰۰ میلی مول Sodium Citrate با pH= ۷/۶) با دمای Cº ۴ استفاده شد. سپس به میزان ۰/۳ میلی‌لیتر همولنف از میگو گرفته شد. با توجه به نسبت ۱:۱ همولنف با محلول ضد انعقاد، ضریب ۲ در سنجش تمام شاخص‌های همولنف لحاظ گردید. رنگ ترکیب همولنف با ماده ضد انعقاد در مجاورت هوا، از حالت بی‌رنگ به رنگ آبی آسمانی تغییر کرد (Yang *et al.*, 2014). محتویات سرنگ، بلافاصله به داخل یک ویال ۱/۵ میلی‌لیتری استریل منتقل و در فریزر Cº ۲۰- قرار داده شد و در همان روز به‌وسیله یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شد. سپس ویال‌های حاوی نمونه، در دمای اتاق یخ‌زدایی شد و پس از همگن شدن با دستگاه ورتکس، به مدت ۱۲ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار با ۱۳۴۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند تا پلاسما از هموسیت‌ها جدا گردید. در مرحله بعد، بخش فوقانی ویال‌ها برای سنجش غلظت کلسترول و تری گلیسرید به دستگاه اتوآنالیزور (COBAS INTEGRA 400PLUS, Germany) منتقل شدند. برای سنجش، از کیت (ROCHE, Germany) استفاده شد (Palacios *et al.*, 2000).

آنالیز آماری داده‌ها

جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کولوموگروف اسمیرنوف و جهت بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون لون استفاده گردید. سپس از آزمون آماری One Way ANOVA و آزمون دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد، جهت مقایسه میانگین‌ها و از نرم افزار SPSS(20) برای آنالیز آماری استفاده شد. نتایج به صورت میانگین± انحراف معیار(SD) بیان شدند.

نتایـج

غلظت کلسترول و تری گلیسرید همولنف میگوی وانامی که با جیره‌هایی حاوی سطوح مختلف سیاه‌دانه غذادهی شده بودند در جدول شماره ۴ بیان شده است. میزان کلسترول و تری گلیسرید همولنف تیمار کنترل از بقیه تیمارهایی که جیره حاوی سیاه‌دانه مصرف کرده بودند به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P< 0.05$). میزان کلسترول و تری گلیسرید میگوهایی که جیره حاوی سیاه‌دانه مصرف کرده بودند به میزان ۴۰ تا ۶۰ درصد از گروه کنترل کمتر بود و کمترین مقدار هم مربوط به تیمار حاوی ۳ درصد سیاه‌دانه بود.

جدول ۴. غلظت کلسترول و تری گلیسرید پلاسمای (mg/dl) میگوی وانامی تغذیه شده با سطوح مختلف سیاه‌دانه، طی دوره ۹۰ روزه آزمایش (n=۹ ؛ میانگین± انحراف معیار)

موارد	تیمارها				
	شاهد	۰/۵ درصد	۱/۵ درصد	۳ درصد	۵ درصد
کلسترول	۲۴/۲۵±۸/۶۶^{a}	۱۴/۱۷±۴/۲۵^{b}	۱۰/۰۷±۴/۳۱^{b}	۸/۸۱±۳/۴۴^{b}	۱۱/۴۴±۳/۸۴^{b}
تری گلیسرید	۴۱/۵۰±۱۰/۴۶^{a}	۲۷/۱۷±۵/۱۶^{b}	۲۶/۳۳±۱۴/۳۲^{b}	۱۸/۵۶±۵/۳۷^{b}	۲۴/۱۷±۱۰/۱۳^{b}

حروف لاتین غیرمشابه بالای اعداد هر ردیف، نشانه معنی‌دار بودن تفاوت بین تیمارها می‌باشد ($P<0/05$).

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 11:33 +0430 on Monday May 24th 2021

بحث

همولنف به عنوان یک ماده بیولوژیک مهم قابل دسترس در تعداد زیادی از گونه‌های آبزیان، از جمله میگوها، همانند خون نقش مهمی در تبادلات یونی و حمل و نقل مواد و انجام بسیاری از فعالیت‌های شیمیایی مورد نیاز بدن، بر عهده دارد؛ لذا مطالعه و سنجش ترکیبات بیوشیمیایی آن می‌تواند حائز اهمیت باشد. در مطالعه حاضر، اثر سطوح مختلف جیره حاوی سیاه‌دانه بر میزان کلسترول همولنف، به عنوان شاخص کلسترول کل لاشه، مورد بررسی قرار گرفت. سیاه‌دانه در بسیاری از موجودات موجب کاهش کلسترول پلاسما شده است. به عنوان مثال در مرغ تخم‌گذار (Shewita and Taha, 2011; Nasir, 2009)، موش‌ها (Ibraheim, 2002; Bamosa *et al.*, 2002) و خرگوش‌ها (Asgary *et al.*, 2015) کلسترول را کاهش داده است. همچنین تحقیقاتی وجود دارد که نشان می‌دهد سیاه‌دانه اثر معنی‌داری بر غلظت تری گلیسرید در حیوانات داشته است. به عنوان مثال در موش‌ها (Shafiee *et al.*, 2012)، انسان‌ها (Ragheb *et al.*, 2008)، خرگوش‌ها (Nader *et al.*, 2010) و مرغ تخم‌گذار (Siddiqui *et al.*, 2015) سیاه‌دانه باعث کاهش سطح تری گلیسرید شده است. در تحقیق حاضر نیز سیاه‌دانه به طور قابل توجهی (بین ۴۰ تا ۶۰ درصد) باعث کاهش سطح کلسترول و تری گلیسرید پلاسما در میگوی وانامی شد.

در تحقیقات گذشته، مکانیسم‌های قابل قبولی در خصوص دلایل کاهش سطح کلسترول به‌وسیله سیاه‌دانه، بیان شده است. اول اینکه، سیاه‌دانه حاوی فیتوسترول و ویتامین C است که به طور غیرمستقیم و به آرامی باعث افزایش فعالیت آنزیم HMG-COA) reductase) می‌شود. یکی از وظایف این آنزیم کاهش سنتز کلسترول است (Al-Beitawi *et al.*, 2009). دوم اینکه استرول‌ها و استانول‌های سیاه‌دانه، جانشین کلسترول در ذرات میسل می‌شوند (Child *et al.*, 1986). برای اینکه آن‌ها بسیار آبگریزتر از کلسترول هستند و این جایگزینی باعث کاهش محتوی کلسترول ذرات میسل و در نهایت، کاهش جذب کلسترول می‌گردد. سیاه‌دانه همچنین غنی از سیتوسترول است که می‌تواند از جذب کلسترول در روده جلوگیری کند (Atta, 2003). یکی از مهم‌ترین ترکیبات سیاه‌دانه Thymoquinone است. این ماده باعث افزایش میزان بیان ژن مربوط به رسپتورهای LDL در کبد می‌شود و همچنین اثر بازدارندگی بر بیان ژن HMG- COA R دارد؛ که هر دوی این مکانیسم ها باعث کاهش سنتز کلسترول می‌شوند (Horton *et al.*, 2002). Thymoquinone با افزایش بیان ژن apolipoprotein A-1 و کاهش بیان ژن apolipoprotein B100 بر متابولیسم کلسترول در سلول‌های G_2 کبدی تأثیر گذاشته و به این صورت سطح کلسترول را پایین می‌آورد (Al-Naqeeb *et al.*, 2009). در ضمن برخی از ترکیبات سیاه‌دانه مانند Tocopherols، Phytosterols و اسیدهای چرب PUFA، با اثر آنتی‌اکسیدانی خود بر روی کلسترول، باعث کاهش آن می‌شوند (Eder *et al.*, 2002; Bamosa *et al.*,1997).

چند دلیل اثبات شده نیز در خصوص کاهش سطح تری گلیسرید، به وسیله سیاه‌دانه وجود دارد. اول اینکه Nigellamine موجود در سیاه‌دانه، به طور مؤثری باعث کاهش سطح تری گلیسرید در سلول‌های هپاتوسیت موش‌ها می‌شود (Morikawa *et al.*, 2004). دلیل دوم این است که میزان بالای اسید لینولئیک موجود در سیاه‌دانه، مانع از بیان ژن مربوط به آنزیم Scd1 (Stearoyl-coA Desaturase) می‌شود؛ بیان این ژن باعث افزایش سطح تری گلیسرید پلاسما می‌شود (Mutch *et al.*, 2005). همچنین کاهش سطح تری گلیسرید، ممکن است ناشی از اثر محتوی بالای اسیدهای چرب PUFA سیاه‌دانه بر افزایش بیان ژن (PPAR-gamma) باشد که مانع از سنتز لیپوپروتئین‌های حاوی تری گلیسرید می‌شود (Mahdavi *et al.*, 2015). به هر حال یک سری فرضیه‌های مشترکی نیز برای علت کاهش سطح کلسترول و تری گلیسرید پلاسما، به‌وسیله سیاه‌دانه مطرح شده است؛ از جمله اینکه ترکیبات سیاه‌دانه ممکن است در کبد مانع از قرار گرفتن acetyl-coA و دی نوکلئوتیدهای FAD و NAD در مسیر لیپو ژنیک خود شوند؛ این کوآنزیم ها برای سنتز کلسترول و تری گلیسرید، حیاتی می‌باشند (Beynen *et al.*, 1987). همچنین فلاوونوئیدهای سیاه‌دانه ممکن است باعث افزایش بیان رسپتورهای LDL در کبد و در نتیجه کاهش سنتز کلسترول شوند (El-Beshbishy *et al.*, 2006). فرضیه دیگری که مطرح است عنوان می‌کند محتوای بالای فیبر سیاه‌دانه، باعث کاهش جذب کلسترول می‌شود (Talati *et al.*, 2009).

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 11:33 +0430 on Monday May 24th 2021

با توجه به اینکه عملکرد هپاتوپانکراس میگو، مشابه کبد و پانکراس در پستانداران است (Diaz *et al.*, 2010)؛ بسیاری از دلایل فوق در مورد کاهش سطح کلسترول و تری گلیسرید پلاسمای میگو، به‌وسیله سیاه‌دانه، در مطالعه حاضر، قابل قبول می‌باشند.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سیاه‌دانه جیره در سطح ۳ درصد قادر است نسبت به سایر سطوح سیاه‌دانه، سطح کلسترول و تری گلیسرید پلاسما را به میزان بیشتری کاهش دهد. قابل توجه است که سطح سیاه‌دانه ۵ درصد کارایی سطح سیاه‌دانه ۳ درصد را برای پایین آوردن میزان کلسترول و تری گلیسرید نداشته است؛ علت را می‌توان این‌گونه بیان کرد که برخی از ترکیبات سیاه‌دانه مثل ساپونین ها، آلکالوئیدها و محتوی فیبر بالای آن اثر ضد تغذیه‌ای دارند (Hermes *et al.*, 2009) و استفاده بیش از حد از سیاه‌دانه می‌تواند اثر عکس داشته باشد. بنابراین برای کم کردن اثر این مواد ضد تغذیه‌ای بهتر است مطالعات آینده روی عصاره سیاه‌دانه صورت بگیرد.

با توجه به نتایج تحقیق حاضر، می‌توان بیان نمود که استفاده از سطوح مختلف سیاه‌دانه، به‌ویژه سطح ۳ درصد، در جیره غذایی میگوی پاسفید غربی، می‌تواند سطح کلسترول و تری گلیسرید پلاسما را بیش از ۵۰ درصد کاهش دهد که در راستای بالا بردن سطح سلامت غذایی میگو برای انسان و بازارپسندی آن، می‌تواند عدد قابل تاملی باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله، مراتب تشکر خود را از آقای مرادی، مدیرعامل شرکت هرمزدام، به دلیل مساعدت در تهیه اقلام اولیه غذایی و آقای پورمعصومی، کارشناس مسئول سایت پرورش میگوی اربیان طلایی برای فراهم نمودن میگوی اولیه و همچنین آقای زرگر، سوپروایزر محترم آزمایشگاه تشخیص طبی دکتر سبحانی بندرعباس، جهت انجام آزمایش‌های همولنف، ابراز می‌نمایند.

منابـع

Akhtar, M.S., Nasir, Z. and Abid, A.R. 2003. Effect of feeding powdered *Nigella sativa L.* seeds on poultry egg production and their suitability for human consumption. Veterinarski-Arhiv. 73: 181-190.

Al-Beitawi, N.A., El-Ghousein, S.S., Nofal, A.H. 2009. Replacing bacitracin methylene disalicylate by crushed *Nigella sativa seeds* in broiler diets and its effects on growth, blood constituents and immunity. Livestock Science. 125: 304-307.

Al-Naqeep, G., Al-Zubairi, A.S., Ismail, M., Hj Amom, Z., MohdEsa, N. 2011. Antiatherogenic potential of *Nigella sativa* seeds and oil in diet-induced hypercholesterolemia in rabbits. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2: 128-136.

Al-Naqeeb, G., Ismail, M. 2009. Regulation of apolipoprotein A-1 and apolipoprotein B100 genes by thymoquinone rich fraction and thymoquinone in HepG2 cells. Journal of Food Lipids. 16: 245-258.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis, 16th edition. Arlington, VA: AOAC. Folch, J., Less, M., Stainley, G.H.S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. The Journal of Biological Chemistry. 226: 497-509.

Arshadi, A., Yavari, V., Oujifard, A., Mousavi, S.M., Gisbert, E., Mozanzadeh, M.T. 2016. Dietary nucleotide mixture effects on reproductive and performance, ovary fatty acid profile and biochemical parameters of female Pacific shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Nutrition. 1-9.

Asgary, S., Sahebkar, A., Goli-Malekabadi, N. 2015. Ameliorative effects of *Nigellasativa* on dyslipidemia. Journal of Endocrinological Investigation. 38(10): 1039-1046.

Atta, M.B. 2003. Some characteristics of Nigella (*Nigella sativa L.*) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. Food Chemistry Journal. 83: 63-68.

Bamosa, A.O., Ali, B., Sowayan, S. 1997. Effect of oral ingestion *Nigella sativa* seeds on some blood parameters. Saudi Pharmaceutical Journal. 5: 126-129.

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 11:33 +0430 on Monday May 24th 2021

Bamosa, A.O., Ali, B.A., Al-Hawsawi, Z.A. 2002. The effect of thymoquinone on blood lipids in rats. Indian Jounal of Physiology and Pharmacology. 46: 195-201.

Beynen, A.C., Katan, M.B., Van Zutphen, L.F.M. 1987. Hypo- and hyperresponders: individual differences in the response of serum cholesterol concentration to changes in diet. Advances in Lipid Research. 22: 115-171.

Chen, K., Li, E., Gan, L., Wang, X., Xu, C., Lin, H. 2014. Growth and lipid metabolism of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at different salinities. Journal of Shellfish Research. 33: 825-832.

Child, P., Kuksis, A. 1986. Investigation of the role of micellar phospholipid in the preferential uptake of cholesterol over sitosterol by dispersed rat jejunal villus cells. Biochemistry and Cell Biology. 64: 847-853.

De Oliveira, E., Scidman, C.E., Tian, J.J., Hudgins, L.C., Sacks, F.M., Breslow, J.L. 1996. Effects of shrimp consumption on plasma lipoproteins. The American Journal of Clinical Nutrition. 64(5): 712-717.

Diaz, C., Sousa, L., Petriella, A. 2010. Functional cytology of the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Decapoda, Caridea) under osmotic stress. Brazilian Archive of Biology and Technology. 53: 599-608.

Eder, K. 2002. Excess dietary vitamin E lowers the activities of antioxidative enzymes in erythrocytes of rats fed salmon oil. The Journal of Nutrition. 132: 3400-3404.

El-Beshbishy, H.A., Singab, A.N.B., Sinkkonen, J., Pihlaja, K. 2006. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba L.* (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats. Life Science. 78: 2724-2733.

Gurib-Fakim, A. 2006. Medicinal plants; traditions of yesterday and drugs for tomorrow. Molecular Aspects of Medicine. 27: 1-93.

Hermes, I.H., Faten, A.M., Attia, K.A., Ibrahim, E., L-Nesr, S.S. 2009. Effect of dietary *Nigella sativa l.* on productive performance and Nutrients Utilization of broiler chicks raised under summer conditions of Egypt. Egypt Poultry Science Journal. 29: 145-172.

Heshmati, N., Namazi, N. 2015. Effects of Black seed (*Nigella sativa*) on metabolic parameters in diabetes mellitus: a systematic review, Complement. Therapeutic Medicine Journal. 23: 275–282.

Horton, J.D., Goldstein, J.L., Brown, M.S. 2002. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. Journal of Clinical Investigation. 109: 1125-1131.

Iba, W., Rice, M.A., Wikfors, G.H. 2014. Microalgae in Eastern Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) hatcheries: A review on roles and culture environments. Asian Fisheries Science. 27: 212-233.

Ibraheim, Z.Z. 2002. Effect of *Nigella sativa* seeds and total oil on some blood parameters in female doxorubicin volunteers. Saudi Pharmacology Journal. 10: 54-59.

Kanazawa, A., Chim, L., Laubier, A. 1988. Tissue uptake of radioactive cholesterol in the prawn *Penaeus japonicus* Bate during induced ovarian maturation. Aquatic Living Resources. 1(2): 85-91.

Khoddami, A., Ghazali, H.M., Yassoralipour, A., Ramakrishnan, Y., Ganjloo, A. 2011. Physicochemical characteristics of nigella seed (*Nigella sativa L.*) oil as affected by different extraction methods. Journal of the American Oil Chemists' Society. 88: 533-540.

Lira, G.M., Barros Silva, K.W., Figueirêdo, B.C., Bragagnolo, N. 2014. Impact of smoking on the lipid fraction and nutritional value of seabob shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*, Heller, 1862). LWT. Food Science and Technology. 58(1): 183-187.

Mahdavi, R., Namazi, N., Alizadeh, M., Farajnia, S. 2015. Effects of *Nigella sativa* oilwith a low-calorie diet on cardiometabolic risk factors in obese women: arandomized controlled clinical trial. Food Function. 6(6): 2041-2048.

Moura, L.B., Cavalheiro, J.M.O., Bora, P.S. 2013. Lipid profile, fatty acid composition and cholesterol content in shrimp. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. 8(4): 197-201.

Downloaded from jae.hormozgan.ac.ir at 11:33 +0430 on Monday May 24th 2021

Meral, I., Yener, Z., Kahraman, T., Mert, N. 2001. Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, anti-oxidant defense system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits. Journal of Veterinary Medicine. A Physiology, Pathology, Clinical Medicine. 48: 593-599.

Morikawa, T., Xu, F., Ninomiya, K., Matsuda, H., Yoshikawa, M. 2004. Nigellamines A3, A4, A5, and C, new dolabellane-type diterpene alkaloids, with lipid metabolism-promoting activities from the Egyptian medicinal food black cumin. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 52: 494-497.

Mutch, D.M., Grigorov, M., Berger, A., Fay, L.B., Roberts, M.A., Watkins, S.M., Williamson, G., German, J.B. 2005. An integrative metabolism approach identifies stearoyl-CoA desaturase as a target for an arachidonate-enriched diet. FASEB Journal. 19: 599-601.

Nader, M.A., El-Agamy, D.S., Suddek, G.M. 2010. Protective effects of propolis and thymoquinone on development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. Archives of Pharmacology Research. 33(4): 637-643.

Nasir, Z. 2009. Comparison of effects of *Echinacea purpurea* juices and *Nigella sativa* seed on performance, some blood parameters, carcass and meat quality of broilers. University of Hohenheim. pp: 6-16.

NRC. 1989. Diet and Health: Implications for Reducing Chronic Disease Risk. Committee on Diet and Health. Natinal. Academies. Press, Washington, DC.

Palacios, E., Ibarra, A.M. and Racotta, I.S. 2000. Tissue biochemical composition in relation to multiple spawning in wild and pond-reared *Penaeus vannamei* broodstock. Aquaculture. 185: 353-371.

Ragheb, A., Elbarbry, F., Prasad, K., Mohamed, A., Ahmed, M.S., Shoker, A. 2008. Attenuation of the development of hypercholesterolemic atherosclerosis by thymoquinone. International Journal of Angiology. 17(4): 186-192.

Shafiee-Nick, A., Ghorbani, F., Vafaee Bagheri, H., Rakhshandeh, H. 2012. Chronic administration of a combination of six herbs inhibits the progression of hyperglycemia and decreases serum lipids and aspartate amino transferase activity in diabetic rats. Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences. 10(5): 789-796.

Sharififar, F., Assadipour, A., Moshafi, M.H., Alishahi, F. and Mahmoudvand, H. 2016. Bioassay screening of the Essential Oil and Various Extracts of *Nigella sativa* L. Seeds Using Brine Shrimp Toxicity Assay. Journal of Herbal Medicine. 2(1): 26-31.

Sharif Rohani, M., Dashtiannasab, A., Ghaednia, B., Mirbakhsh, M., Yeganeh, V., Vahabnezhad, A. 2013**.** Investigation of the possibility use of *Zataria multiflora* (Avishan-e Shirazi) essence in control of fungal contamination of cultured shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 12: 454-464.

Shewita, R.S., Taha, A.E. 2011. Effect of dietary supplementation of different levels of Black cumin (*Nigella sativa L.*) on growth performance, immunological, haematological and carcass parameters of broiler chicks. World Academy of Science, Engineering and Technology. 77: 788-798.

Siddiqui, M.N., Islam, M.T., Sayed, M.A., Hossain, M.A. 2015. Effect of dietary supplementation of acetone extracts of *Nigella sativa L.* seeds on serum cholesterol and pathogenic intestinal bacterial count in broilers. Journal of Animal and Plant Sciences. 25(2): 372-379.

Talati, R., Baker, W.L., Pabilonia, M.S., White, C.M., Coleman, C.I. 2009. The effects of barley-derived soluble fiber on serum lipids. Annals of Family Medicine. 7(2): 157-163.

Yang, C., Chen, N., Lu, L., Chen, S., Lai, C. 2014. Effect of mushroom Beta glucan on immune and haemocyte response in shrimp *Litopenaeus vannamei*. Journal Aquaculture Research Development. 5(6): 275-280.

Venkatramalingam, K., Christopher, J.G., Citarasu, T. 2007. *Zingiber officinalis* an herbal appetizer in the tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius) larviculture. Aquaculture Nutrition. 13: 439-443.

Zaoui, A., Cherrah, Y., Mahassini, N., Alaoui, K., Amarouch, H., Hassar, M. 2002. Acute and chronic toxicity of *Nigella sativa* fixed oil. Phytomedicine Journal. 9(1): 69-74.