**شیلات، مجله منابع طبیعی ایران**
دوره ۷۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹
صفحات ۴۸۲-۴۷۱

# اثر جیره‌های غذایی حاوی روغن سیاه دانه (*Nigella sativa*) بر عملکرد رشد، شاخص‌های آنتی‌اکسیدان و بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم گوارشی در سیچلاید الکتریک زرد (*Labidochromis caeruleus*)

**شلاله موسوی[1]*، نجمه شیخ‌زاده[2]، امین مرندی[3]**

*۱. استادیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران*
*۲. دانشیار گروه گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران*
*۳. دانشجوی دکتری عمومی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران*

**تاریخ دریافت: ۱۳۹۹ /۰۶/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۰۳**

## چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی کارایی روغن سیاه دانه (*Nigella sativa*) خوراکی بر میزان رشد، برخی فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدان و بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های گوار شی در ماهی سیچلاید الکتریک زرد (*Labidochromis caeruleus*) انجام شد. ماهی‌ها (g ۰/۰۸ ± ۱/۲۹) به سه گروه تقسیم شده با ۰، ۱ و ۱/۵ درصد روغن سیاه دانه به مدت ۵۰ روز تغذیه شدند. نتایج نشان داد که عملکرد رشد در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل بهبود یافت (P< ۰/۰۵). از میان شاخص‌های مختلف آنتی‌اکسیدان، فعالیت آنتی‌اکسیدان تام بالاتری در گروه تیمار دریافت‌کننده ۱/۵درصد روغن سیاهدانه گزارش گردید (P< ۰/۰۵) اما محصول پراکسیداسیون لیپیدی، نشان داده شده با MDA، در قیاس با گروه کنترل تغییر نکرد (P> ۰/۰۵). به علاوه، فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، شامل سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در هر دو گروه تیمار و گلوتاتیون اس-ترانسفراز در گروه تیمار دریافت‌کننده ۱/۵درصد روغن سیاهدانه در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (P< ۰/۰۵). در این بررسی، میزان پروتئین بالاتر در هر دو گروه تیمار نیز مشخص گردید (P< ۰/۰۵) اما هیچ تغییر معنی داری در میزان آلانین آمینوترانسفراز در مقایسه با گروه کنترل دیده نشد (P> ۰/۰۵). تغذیه با روغن سیاه دانه به افزایش فعالیت آمیلاز و اسیدفسفاتاز منجر شد (P< ۰/۰۵)، اما هیچ تغییر معنی داری در فعالیت لیپاز و پروتئاز دیده نشد (P> ۰/۰۵). بنابراین، نتایج نشان داد که مصرف روغن سیاه دانه، به‌خصوص به میزان ۱/۵ درصد، در بهبود عملکرد رشد، برخی شاخص‌های آنتی‌اکسیدان و همچنین فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی سیچلاید الکتریک زرد توانا است.

**واژه‌های کلیدی:** روغن سیاه دانه، سیچلاید الکتریک زرد، رشد، آنتی‌اکسیدان، فعالیت آنزیم گوارشی.

* نویسنده مسئول: شلاله موسوی
Email: shalaleh.mousavi@tabrizu.ac.ir

**Journal of Fisheries**
Vol. 73, No. 3, Autumn 2020
pp. 471-482

# Effects of dietary-black cumin (*Nigella sativa*) oil on growth, antioxidant and biochemical indices and digestive enzyme activities in electric yellow cichlid (*Labidochromis caeruleus*)

**Shalaleh Mousavi[1*], Najmeh Sheikhzadeh[1], Amin Marandi[1]**

*1. Assistant Professor, Department of Food Hygiene and Aquatic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran*
*1. Associate Professor, Department of Food Hygiene and Aquatic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran*
*1. DVM Student, Department of Food Hygiene and Aquatic Animals, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran*

**Received: 07-Aug-2019 Accepted: 24-Sep-2020**

## Abstract

The current study was performed to examine the efficacy of dietary- black cumin (*Nigella sativa*) oil on the growth rate, some antioxidant and biochemical parameters, as well as digestive enzyme activity in electric yellow cichlid. Fish (1.29 ±0.08 g) were divided into three groups and fed the diets containing 0, 1% and 1.5% black cumin oil for 50 days. Results showed that growth performance was enhanced in the treatment groups compared to the control group ($p < 0.05$). Among different antioxidant indices, higher total antioxidant activity was observed in the treatment group fed fed the diets containing 1.5% black cumin oil ($p < 0.05$), but lipid peroxidation product, indicated by MDA, was not altered compared to the control group. Meanwhile, activities of some antioxidant enzymes, including superoxide dismutase and catalase in both treatment groups and glutathione S-transferase in group fed fed the diets containing 1.5% black cumin oil were higher compared to the control group ($p < 0.05$). During this experiment, higher protein level was also recorded in the treatment groups ($p < 0.05$), but no significant changes were noted in alanine aminotransferase level in comparison with the control group. Feeding with black cumin oil also led to a significant increase in amylase and acid phosphatase activities ($p < 0.05$), whereas no significant changes were noted in lipase and protease activities. Therefore, the results show that the administration of black cumin oil, especially at 1.5%, had the potential to improve the growth rate, some antioxidant indices, as well as digestive enzyme activities in electric yellow cichlid.

**Keywords:** black cumin oil, electric yellow cichlid, growth, antioxidant parameter, digestive enzyme activity.

Corresponding author: Shalaleh Mousavi Email: shalaleh.mousavi@tabrizu.ac.ir

## ۱. مقدمه

پرورش و نگهداری ماهیان زینتی همواره بعنوان یکی از صنایع سودآور مطرح بوده است. امروزه گسترش و سودآوری صنعت آبزی پروری در حوزه ماهیان زینتی مستلزم پیشرفت‌های چشمگیری در تحقیقات علمی است. هر ساله گونه‌های جدید و ارز شمندی وارد کشور می‌شوند و ماهی سیچلاید الکتریک زرد (*Labidochromis caeruleus*) که از ماهیان بسیار زیبای آب شیرین در مناطق گرمسیری دریاچه مالاوی در آفریقا محسوب می شود نیز با خصوصیات منحصر بفرد خود در سال‌های اخیر مورد توجه علاقه‌مندان ماهیان آکواریومی قرار گرفته است (Saemi-Komsari *et al*., 2018). از آنجاکه ماهیان زینتی به طور متراکم نگهداری می‌شوند، لذا، در آکواریوم حین پرورش متراکم، امکان درگیری با عوامل مختلف استرس زا مانند بیماری و آلودگی های محیطی وجود دارد. این گونه استرس‌ها قادر به ایجاد متابولیت‌های فعال اکسیژن و نیتروژن هستند که از آن به عنوان استرس اکسیداتیو نام می‌برند. استرس اکسیداتیو ناشی از عدم تعادل در وضعیت احیایی بدن است که طی آن، افزایش رادیکال های آزاد بدن منجر به آسیب های بافتی می‌گردد. متابولیت های فعال اکسیژن از طریق مسیرهای مختلف متابولیکی مانند متابولیسم هوازی در زنجیره تنفسی میتوکندری تولید می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها مکانیسم‌های دفاعی بدن در برابر اکسیدان‌ها هستند که در حفظ وضعیت احیائی بدن و حذف گونه های فعال اکسیژن و برقراری تعادل بین واکنش های اکسایش-کاهش در بدن نقش مهمی را ایفا می‌کنند. مهم‌ترین و فراوان‌ترین آنتی‌اکسیدان های آنزیمی شامل کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون اس ترانسفراز می‌باشد (Birnie-Gauyin *et al*., 2017). استرس اکسیداتیو در محیط سلولی منجر به تشکیل لیپید پراکسیدهای ناپایدار و واکنشگر می‌شود. تجزیه پراکسیدهای ناپایدار و مشتق شده از اسیدهای چرب غیراشباع منجر به تشکیل مالون‌دی‌آلدئید (MDA) می شود که سنجش آن در سرم خون، شاخص مناسبی جهت برر سی پراکسیدا سیون لیپیدها محسوب می شود (Birnie-Gauyin *et al*., 2017).

مصرف برخی افزودنی های خوراکی قادر به ایجاد محافظت موجودات در برابر استرس‌های اکسیداتیو است. از جمله این افزودنی‌ها، می‌توان به ترکیبات گیاهی اشاره نمود. حین پرورش متراکم در محیط آکواریوم، امکان بروز بیماری‌های گوناگون نا شی از باکتری‌ها، ویروس‌ها، انگل‌ها و قارچ‌ها تشدید می‌یابد. از طرفی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و پیش‌گیری‌کننده‌های شیمیایی در مقابل بیماری‌های آبزیان دارای عوار ضی مانند ایجاد مقاومت در عامل بیماری نسبت به دارو و آلودگی محیط زیست است. با توجه به محدودیت‌های موجود در کاربرد آنتی‌بیوتیک‌ها و نیز کارائی کم واکسن‌ها در آبزیان، توجه به محرک‌های ایمنی به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر شده است. فراورده‌های گیاهی به خاطر خصوصیات خاص از جمله خطر کمتر برای محیط زیست، در دسترس و ارزان‌قیمت بودن و نیز امکان کشت در سطح وسیع بیشتر توجهات را به خود جلب نموده‌اند. در سال‌های اخیر استفاده ازگیاهان دارویی جهت تقویت رشد و عملکرد ایمنی ماهیان رو به گسترش است (Awad and Awaad, 2017). سیاه دانه متعلق به خانواده *Magnoliophyta*، رده *Magnoliopsida*، راسته *Ranunculales*، تیره *Ranunculacea* بوده و با نام علمی *Nigella sativa* شناخته می‌شود. ترکیبات شیمیایی سیاه دانه حاوی روغن غیرفرار، روغن فرار، پروتئین، اسیدهای آمینه مختلف، قندها، موسیلاژ، آلکالوئیدها، اسیدهای ارگانیک، تانن‌ها، رزین‌ها، لیپاز، فیتواسترول‌ها، ویتامین‌ها و انواع مواد معدنی است. از روغن سیاه دانه موادی نظیر تیمول، تیموکوئینون و دی‌تیموکوئینون به دست می‌آید. تیموکوئینون از جمله ترکیباتی است که بخش عمده‌ای از اثرات داروئی سیاه دانه را موجب می شود که شامل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطانی و کاهش استرس اکسیداتیو است (Bordoni *et al*., 2019). بر اساس برخی مطالعات انجام گرفته سیاه دانه سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز و درنتیجه کاهش

استرس اکسیداتیو در موش رت و انسان می‌گردد (El-Mahmoudy *et al*., 2002; Umar *et al*., 2012; Bordoni *et al*., 2019). در برخی مطالعات اثرات مثبت سیاه دانه بر روی رشد و فراسنجه‌های بیوشیمیایی و سیستم ایمنی گونه‌های مختلف ماهی مانند ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) و ماهی قرمز (*Carassius auratus*) مشخص شده‌است (Alishahi and Mesbah., 2012; Awad *et al*., 2013; Khondoker *et al*., 2016; Oz *et al*., 2018).

مطالعات محدودی در ارتباط با اثرات تحریک ایمنی و رشد این گیاه در ماهیان زینتی وجود دارد. با توجه به اثرات مثبت سیاه دانه بر سیستم ایمنی و فراسنجه‌های بیوشیمیایی در علم پزشکی و دامپزشکی، به نظر می‌رسد این ترکیب نقش مشابهی را در ماهی سیچلاید الکتریک زرد ایفا کند. مطالعه حاضر برای نخستین بار جهت بررسی تاثیر خوراکی روغن سیاه دانه بر رشد و تقویت عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدان و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی سیچلاید الکتریک زرد انجام گرفته است.

## ۲. مواد و روش‌ها

این مطالعه در مزرعه تکثیر و پرورش ماهیان آکواریومی در مرند انجام گرفت. در این مطالعه ۶۰ قطعه بچه ماهی سالم با میانگین وزنی (۰/۰۸ ± ۱/۲۹) گرم پس از ۱۰ روز سازگاری اولیه به طور تصادفی در شش مخزن شیشه ای (۱۰ قطعه در هر آکواریوم با دو تکرار) با ابعاد cm ۳۰ ×۵۰ ×۱۰۰ و حجم ۷۶ لیتر ذخیره سازی شدند. هوادهی در مخزن‌ها با استفاده از سنگ‌های هوای استوانه‌ای و تعویض هفتگی آب تانک‌ها (۲۵درصد) با آب تازه انجام گرفت؛ میانگین دمای آب ۲۵/۵-۲۵ درجه سانتیگراد، pH برابر ۸/۲-۸ ، KH برابر ۱۰ و نوردهی به میزان هشت ساعت در روز بود. غذا دهی در گروه کنترل با خوراک تجاری شرکت Energy تایلند و در گروه تیمار با افزوده روغن سیاه دانه تهیه شده از شرکت داروسازی گیاه اسانس (مشهد، ایران) به میزان ۱ و ۱/۵ درصد در طی دوره ۵۰ روزه صورت گرفت. مقدار یا دوزهای مورد آزمایش بر اساس اثرات مثبت ایجاد شده با این مقادیر در گونه‌های مختلف ماهی انتخاب شدند (Ewad *et al*., 2013; Oz *et al*., 2018). جهت افزودن روغن به خوراک ماهی از روش اسپری سطحی استفاده شد. پس از خشک شدن پلت‌ها یا حبه‌های غذایی، خوراک در داخل پلاستیک‌های جداگانه ریخته شد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

### ۲.۱. نحوه نمونه‌برداری

در روز اول و ۵۰ ام تغذیه با روغن سیاه دانه، ماهی‌های موجود در هر مخزن پرورشی به صورت جداگانه با عصاره گل میخک از شرکت Kush Aroma کشور هند به میزان ۵۰ میکرولیتر در لیتر (Sheikhzadeh *et al*., 2012) بی‌هوش شدند و ابتدا وزن و طول تمامی ماهیان بطور دقیق ثبت گردید. در مرحله بعد، تهیه هموژن بافتی طبق مطالعه احمدی‌فر و همکاران (۲۰۱۹) انجام شد (Ahmadifar *et al*., 2019). بدین منظور، سر و باله‌های هر ماهی قطع، به صورت جداگانه در نیتروژن مایع فریز شده و با هموژنایزر دستی یکنواخت گردید. در مرحله بعدی، هموژی بافتی بدست آمده از هر ماهی در محلول تریس هیدروکلرید ۲۵ mM با pH برابر ۷/۲ قرار داده شد و در دور g × ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول روئی بدست آمده جمع آوری شد و در میکروتیوب‌های کوچک در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد نگه‌داری شد تا به منظور بررسی فاکتورهای ذکر شده در زیر مورد استفاده قرار گیرد.

### ۲،۲. سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدان

جهت بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی تام از روش FRAP (آنتی‌اکسیدان احیا کننده آهن) مطابق روش بنزی استفاده شد. اساس این روش به این صورت است که کمپلکس فریک - تری پیریدیل تری آزین توسط آنتی‌اکسیدان‌های نمونه، احیا شده و به فرم فروس در می‌آید که این ترکیب به رنگ آبی است و شدت رنگ

ایجاد شده در دستگاه اسپکتروفوتومتر با طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود (Sheikhzadeh *et al*., 2012). از کیت راندوکس جهت اندازه‌گیری آنزیم سوپراکسیددیسموتاز بر اثر فعالیت آنزیمی گزانتین‌اکسیداز استفاده شد و تولید رنگ فورمازین در طول موج ۵۰۵ نانومتر قرائت شد (Aebi, 1974). اندازه‌گیری آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز در طول موج ۳۴۰ نانومتر و توسط کیت راندوکس انجام گرفت. اساس آزمایش بر اکسیداسیون گلوتاتیون‌پراکسیداز و احیاء آن توسط گلوتاتیون – ردوکتاز، اکسیداسیدون NADPH و تولید +NADP استوار است (Aebi, 1974). فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس فرایند تجزیه پراکسیدهیدروژن و تشکیل کمپلکس با ثبات با مولیبدات آمونیوم اندازه‌گیری شد. تغییرات رنگی مولیبدات و پراکسید هیدروژن در طول موج ۴۰۵ نانومتر خوانده شد (Aebi, 1974). میزان آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز به روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از دی‌تیو – بیس نیتروبنزوئیک اسید (DTNB) بر اساس روش المان انجام گرفت و در طول موج ۳۵۰ نانومتر قرائت شد (۱). اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی با روش تیوباربیتوریک اسید انجام گرفت که به‌طور خلاصه به نمونه ۲/۵ میلی‌لیتر TCA ۲۰ درصد اضافه و در دور g × ۱۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. ml ۲/۵ اسید سولفوریک M ۰/۰۵ و دو میلی‌لیتر تیوباربیتوریک اسید ۰/۲ درصد به رسوب حاصل از سانتریفیوژ اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری جوش قرار گرفت؛ سپس چهار میلی‌لیتر n بوتانول به محلول اضافه و سانتریفیوژ گردید و پس از خنک شدن، میزان جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد (Sheikhzadeh *et al*., 2012).

### ۲.۳. سنجش فراسنجه‌های بیوشیمیایی

به طور خلاصه اندازه‌گیری پروتئین تام توسط کیت پارس‌آزمون مطابق با روش بیوره و در طول موج ۵۴۵ نانومتر انجام گرفت که در آن پروتئین‌ها در محیط قلیایی با یون‌های مس و تارتارات تشکیل کمپلکس رنگی می‌دهند (Mousavi *et al*., 2020). آنزیم آلانین‌آمینوترانسفراز براساس مصرف لاکتات‌دهیدروژناز و تبدیل پیرووات به لاکتات در طول موج ۳۴۰ نانومتر و توسط کیت پارس‌آزمون مورد سنجش قرار گرفت (Sheikhzadeh *et al*., 2012).

### ۲،۴. سنجش فعالیت آنزیم‌های گوارشی

میزان فعالیت آنزیم آمیلاز بر اساس کیت پارس آزمون و بر پایه مقدار مالتوز آزاد شده مورد سنجش قرار گرفت و جذب نوری در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت شد (King, 1972). با استفاده از کیت پارس‌آزمون سنجش آنزیم پروتئاز بر حسب مقدار تیروزین آزاد شده انجام گرفت و جذب نوری در طول موج ۴۶۰ نانومتر قرائت شد (King, 1972). میزان فعالیت آنزیم لیپاز با کیت پارس‌آزمون و بر اساس مقدار سود مصرف شده به منظور خنثی‌سازی اسیدهای چرب آزاد شده انجام گرفت و قرائت جذب نوری در طول موج ۴۸۰ نانومتر صورت پذیرفت (King, 1972). فعالیت آنزیم اسیدفسفاتاز بر اساس میزان تبدیل پارانیتروفنیل استات به پارانیتروفنول و فسفات تحت تاثیر آنزیم اسیدفسفاتاز محاسبه و در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت می‌شود (King, 1972).

### ۲.۵. تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ مورد سنجش قرار گرفت. در این تحقیق برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از واریانس یک راهه آنوا One way ANOVA استفاده گردید. مقایسه تیمارها نیز با آزمون Tukey انجام و سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

## ۳. نتایج

### ۳.۱. شاخص‌های رشد

شاخص‌های رشد مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. در این مطالعه شاخص‌های رشد مورد بررسی

شامل طول نهایی و وزن نهایی در هر دو گروه تیمار اختلاف معنی‌داری را با گروه کنترل نشان می‌دهد (P< ۰/۰۵).

**جدول ۱- مقایسه میانگین (میانگین ± انحراف معیار) شاخص‌های رشد در ماهی‌های سیچلاید الکتریک زرد تغذیه شده با روغن سیاه دانه و خوراک پایه**

| فاکتور رشد | (۰٪) روغن سیاهدانه | (۱٪) روغن سیاهدانه | (۱/۵٪) روغن سیاهدانه |
|---|---|---|---|
| طول ابتدایی (سانتی‌متر) | ۴/۳۲ ± ۰/۱۲ | ۴/۴۰ ± ۰/۱۱ | ۴/۴۱ ± ۰/۰۸ |
| وزن ابتدایی (گرم) | ۱/۲۷ ± ۰/۰۹ | ۱/۳۱ ± ۰/۰۷ | ۱/۲۸ ± ۰/۱۰ |
| طول نهایی (سانتی‌متر) | ۵/۳۹ ± ۰/۱۷[a] | ۶/۰۹ ± ۰/۲۵[b] | ۶/۱۱ ± ۰/۱۳[b] |
| وزن نهایی (گرم) | ۲/۱۸ ± ۰/۱۰[a] | ۶/۱۱ ± ۰/۱۳[b] | ۶/۳۳ ± ۰/۱۵[b] |

-اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P< ۰/۰۵).

## ۳.۲. فعالیت آنتی‌اکسیدان

فعالیت آنتی‌اکسیدان تام درگروه تیمار دریافت‌کننده ۱/۵درصد روغن سیاهدانه افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت (P<۰/۰۵). در مقابل، میزان پراکسیداسیون لیپیدی در دو گروه تیمار در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵). بررسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نیز نشان دهنده افزایش میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در هر دو گروه تیمار و گلوتاتیون اس-ترانسفراز در گروه تیمار دریافت‌کننده ۱/۵درصد روغن سیاهدانه در مقایسه با گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). اما اختلاف معنی داری در میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل دیده نشد (P>۰/۰۵) (جدول ۲).

**جدول۲- مقایسه میانگین (میانگین ± انحراف معیار) فعالیت آنتی‌اکسیدان بررسی شده در ماهی‌های سیچلاید الکتریک زرد تغذیه شده با روغن سیاه دانه و خوراک پایه**

| فاکتورهای بررسی شده | (۰٪) روغن سیاهدانه | (۱٪) روغن سیاهدانه | (۱/۵٪) روغن سیاهدانه |
|---|---|---|---|
| فعالیت آنتی‌اکسیدان تام (میلی‌مول در میلی‌گرم پروتئین) | ۳۴/۱۲ ± ۳/۱۸[a] | ۳۸/۲۱ ± ۲/۴۰ [a] | ۵۱/۶۷ ± ۲/۲۶[b] |
| پراکسیداسیون لیپیدی (میکرومول در میلی‌گرم پروتئین) | ۱۸/۵۲ ± ۱/۴۴ | ۱۶/۸۲ ± ۰/۶۷ | ۱۵/۶۲ ± ۰/۵۹ |
| سوپراکسید دیسموتاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) | ۳/۳۹ ± ۰/۰۹[a] | ۴/۱۵ ± ۰/۱۶[b] | ۴/۳۷ ± ۰/۰۸[b] |
| کاتالاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) | ۱۲/۷۵ ± ۱/۱۰[a] | ۲۰/۹۵ ± ۰/۸۲[b] | ۱۹/۸۹ ± ۰/۴۷[b] |
| گلوتاتیون اس-ترانسفراز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) | ۱۷/۰۱ ± ۰/۱۸[a] | ۱۸/۲۲ ± ۰/۰۷[a] | ۲۳/۹۷ ± ۰/۱۲[b] |
| گلوتاتیون پراکسیداز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) | ۲۰/۲۰ ± ۲/۳۳ | ۲۲/۸۲ ± ۱/۲۲ | ۲۲/۱۹ ± ۱/۸۴ |

-اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P< ۰/۰۵).

## ۳.۳. فراسنجه‌های بیوشیمیایی

پروتئین تام درگروه‌های تیمار افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت (جدول ۳). در مقابل، فعالیت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی‌داری را نشان نداد (P> ۰/۰۵).

## ۳.۴. فعالیت آنزیم‌های گوارشی

نتایج بد ست آمده از سنجش میزان آنزیم‌های آمیلاز و اسید فسفاتاز در سیچلایدهای الکتریک زرد تغذیه شده با روغن سیاه دانه نشانگر افزایش معنی دار نسبت به گروه کنترل بود (P< ۰/۰۵). اما در میزان لیپاز و پروتئاز گوارشی

اختلاف معنی داری مشاهده نشد (P> ۰/۰۵) (جدول ۴).

**جدول۳- مقایسه میانگین (میانگین ± انحراف معیار) فعالیت بیوشیمیایی در ماهی‌های سیچلاید الکتریک زرد تغذیه شده با روغن سیاه دانه و خوراک پایه**

| فاکتورهای بررسی شده | (۰٪) روغن سیاهدانه | (۱٪) روغن سیاهدانه | (۱/۵٪) روغن سیاهدانه |
|---|---|---|---|
| پروتئین تام (گرم در دسی‌لیتر) | ۲۴/۰۲ ± ۰/۷۰[a] | ۳۴/۴۰ ± ۲/۲۹[b] | ۳۶/۰۷ ± ۱/۶۷[b] |
| آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) | ۲/۱۱ ± ۰/۲۴ | ۲/۲۸ ± ۰/۱۰ | ۲/۳۰ ± ۰/۰۵ |

-اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P< ۰/۰۵).

**جدول۴- مقایسه میانگین (میانگین ± انحراف معیار) فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی‌های سیچلاید الکتریک زرد تغذیه شده با روغن سیاه دانه و خوراک پایه**

| آنزیم‌های گوارشی | (۰٪) روغن سیاهدانه | (۱٪) روغن سیاهدانه | (۱/۵٪) روغن سیاهدانه |
|---|---|---|---|
| لیپاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) | ۶/۰۶ ±۰/۴۵ | ۶/۱۷ ± ۰/۴۳ | ۶/۲۹ ± ۰/۶۹ |
| آمیلاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) | ۳۸/۲۷ ± ۱/۶۶[a] | ۵۲/۱۰ ± ۳/۰۱[b] | ۵۰/۹۸ ± ۲/۷۲[b] |
| اسیدفسفاتاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) | ۰/۱۴۷ ± ۰/۰۰۶[a] | ۰/۱۹۸ ± ۰/۰۰۴[b] | ۰/۱۹۵ ± ۰/۰۱[b] |
| پروتئاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) | ۱۴/۱۵ ± ۰/۵۱ | ۱۴/۸۰ ± ۰/۷۹ | ۱۴/۲۱ ± ۰/۳۵ |

-اعداد با حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (P< ۰/۰۵).

## ۴. بحث و نتیجه‌گیری

گیاه سیاه دانه به دلیل دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند تیمول، تیموکوئینون و دی تیمو کوئینون از دیرباز مورد توجه در علم پزشکی و دامپزشکی بوده است. در مطالعه حاضر تغذیه با روغن سیاه دانه منجر به افزایش معنی‌دار طول و وزن نهایی در ماهیان گروه‌های تیمار نسبت به گروه کنترل گردید که مشابه نتایج مطالعات دیگر بود. در مطالعه انجام گرفته توسط Khalafalla و همکاران (۲۰۰۹) افزودن سیاه دانه به میزان ۳ درصد جیره پایه موجب افزایش معنی‌دار در رشد ماهیان تیلاپیا در گروه تیمار شد (Khalafalla, 2009). Al-Dubakel و همکاران (۲۰۱۲) به مطالعه اثرات تغذیه با سه مقدار یا دوز (۰، ۱ و ۳) در صد سیاه دانه در رشد ماهیان کپور معمولی پرداختند. پس از ۵۶ روز تغذیه، رشد گروه دریافت‌کننده ۱درصد جیره پایه سیاه دانه افزایش معنی‌داری نسبت به دو گروه دیگر داشت (Al-Dubakel *et al*., 2012). در مطالعه‌ای دیگر Oz و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند تغذیه با مقادیر ۰، ۰/۱، ۰/۴، ۰/۷، ۱ و ۱/۳ درصد سیاه دانه در ماهی قزل آلای رنگین‌کمان موجب افزایش معنی‌دار وزن ماهیان مورد آزمایش می‌گردد بطوریکه گروه های دریافت کننده بیشترین مقادیر سیاه دانه بیشترین میزان افزایش وزن را نشان دادند. به نظر می‌رسد تاثیر سیاه دانه در تحریک فعالیت دستگاه گوارش، تحریک اشتها و افزایش قابلیت هضم عامل اصلی افزایش رشد در ماهی‌ها باشد (Al-Dubakel *et al*., 2012).

در مطالعه حاضر تغذیه با روغن سیاه دانه موجب افزایش آنتی‌اکسیدان تام سرم (در دوز ۱/۵درصد) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد، اما در میزان مالون‌دی‌آلدهید تغییری حاصل نشد. مطالعات زیادی به بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی سیاه دانه پرداخته‌اند. اثرات محافظتی

تیموکینون و روغن سیاه دانه در کاهش مالون‌دی‌آلدهید و پیشگیری از پراکسیداسیون چربی‌های ناشی از آسیب ایسکمیک به هیپوکامپ در موش به اثبات رسیده‌است (Uz *et al*., 2008). در مطالعه‌ای دیگر تغذیه با سیاه دانه (۱۰درصد) موجب خنثی سازی استرس اکسیداتیو ناشی از دی‌بوتیل‌آمین و نیترات سدیم در موش رت‌های آلبینو از طریق ثابت نگه داشتن سطح گلوتاتیون و نیتریک اکساید شد (El Gendy *et al*., 2007). Sogut و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند تغذیه جوجه‌ها با روغن سیاه دانه به مدت شش هفته موجب کاهش استرس اکسیداتیو در کبد از طریق افزایش فعالیت میلوپراکسیداز، گلوتاتیون-اس-ترانسفراز، کاتالاز، آدنوزین‌دآمیناز و کاهش مالون‌دی‌آلدهید و پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد. Uz و همکاران (۲۰۰۸)، به بررسی اثرات حفاظت کننده روغن سیاه دانه در مقابل اثر سمی داروی سیکلوسپورین بر بافت قلب رت‌ها پرداختند. در این مطالعه پس از تجویز ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم روغن سیاه دانه به مدت ۲۱ روز، افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون، سوپراکسید دیسموتاز و کاهش مالون دی آلدهید مشاهده گردید (Uz *et al*., 2008). در مطالعه‌ای دیگر که اثرات محافظتی سیاه دانه در رت های دچار نفروتوکسیسیتی با جنتامایسین مورد بررسی قرار گرفت، گروه دریافت‌کننده سیاه دانه دارای مالون‌دی‌آلدهید و نیتریک اکساید کمتر و سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون اس-ترانسفراز بیشتر نسبت به گروه کنترل در سرم خون خود بود (Yaman and Balikci, 2010). بررسی تاثیر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهان زیره سیاه، سیاه دانه و تلفیق آن‌ها بر افزایش ماندگاری فیله ماهی کپور نقره‌ای نگه‌داری شده در یخچال نشان داد که تیمار دریافت کننده عصاره، اکسیداسیون لیپید نسبت به گروه کنترل به تعویق می‌افتاد. و روند افزایشی شاخص‌های شیمیایی در گروه تیمار شده با سیاه دانه نسبت به دو گروه تیمار دیگر به طور معنی‌داری پائین‌تر بود (Gholamzadeh *et al*., 2013). خواص آنتی‌اکسیدانی سیاهدانه را به ترکیباتی مانند مونوترپن پاراسیمین، گاماترپنین، لیمونن، تانن و بتاپینن موجود در آن نسبت داده‌اند که خاصیت آنتی‌اکسیدانی و حذف‌کنندگی رادیکال‌های آزاد دارند (Bourgoue *et al*., 2010).

پروتئین تام از جمله شاخص‌هایی است که جهت بررسی فعالیت سیستم ایمنی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. در مطالعه حاضر پروتئین تام در گروه تیمار نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد. تنها در یک مطالعه تاثیر سیاه دانه در پروتئین تام سرم مورد بررسی قرار گرفته‌است که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. تا کنون مطالعه‌ای در این زمینه در ماهی صورت نگرفته‌است اما می‌توان گفت سیاه دانه حاوی ترکیبات فلاوونوئیدی متنوعی است که دارای اثرات استروژنی هستند که در افزایش پروتئین تام بدن تاثیرگذارند از طرفی افزایش پروتئین‌هایی مانند ترنسفرین، سرولوپلاسمین، گلوبولین و پرآلبومین متعاقب استفاده از سیاه دانه در افزایش پروتئین تام نقش دارند (Al–Kadhi, 2013).

در مطالعه حاضر تفاوت معنی‌داری در میزان آنزیم کبدی آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) بدست آمده از هموژن بافتی ماهی‌ها متعاقب استفاده از ۱ و ۱/۵ در صد روغن سیاه دانه مشاهده نشد. از آنجایی‌که مهمترین بافت تولید کننده ان آنزیم، بافت کبد است بنابراین وجود مقادیر بالای این آنزیم در هموژن‌های بافتی بدست آمده در ماهی، می‌تواند نشان دهنده آسیب بافتی در کبد باشد. با توجه به پایین بودن میزان آنزیم نامبرده در ماهی‌های تیمار شده با روغن سیاه دانه در مقایسه با گروه کنترل چنین به نظر می‌رسد که تجویز سیاه دانه در مقادیر فوق سمیتی برای ماهی ندارد. در موش‌های تغذیه شده با مقادیر ۲۸/۸ میلی‌لیتر روغن سیاه دانه بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۲ هفته، اثرات سمی در کبد مشاهده نگردید و مقادیر آنزیم های کبدی نظیر آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز و گاما گلوتامیل‌ترانسفراز تغییری نکردند (Zaoui *et al*., 2002). اثرات مثبت سیاه دانه بر کبد و آنزیم‌های آن در مطالعات زیادی بررسی شده‌است. به عنوان مثال، Nagi و همکاران

(۱۹۹۹) نشان دادند تجویز تیموکوئینون استخراج شده از سیاه دانه به موش‌های در معرض تتراکلرید کربن با آسیب کبدی، منجر به ترمیم کبد و کاهش ترشح آنزیم های لاکتات دهیدروژناز، آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات ترانس آمیناز می‌شود. درمطالعه انجام گرفته توسط Ekanem و Yusuf (۲۰۰۸) مصرف خوراکی سیاه دانه تو سط موش‌های آلوده به *Trypanosoma brucei* موجب ترمیم کبد و بهبود فعالیت آنزیم‌های کبدی مانند آلکالین فسفاتاز و گلوتامات ترانس آمیناز شد. سیاه دانه موجب افزایش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی کبد مانند سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز و پاکسازی رادیکال‌های آزاد می شود که در نهایت منجر به کاهش اثرات مخرب سموم مختلف بر کبد می‌گردد (Ekanem and Yusuf, 2008).

در مطالعه حاضر تغذیه با سیاه دانه موجب افزایش معنی‌دار برخی آنزیم‌های گوارشی مانند آمیلاز و اسیدفسفاتاز در گروه‌های تیمار گردید اما تغییری در فعالیت آنزیم‌های لیپاز و پروتئاز مشاهده نشد. تاکنون مطالعات محدودی در زمینه تاثیر سیاه دانه بر روی آنزیم‌های گوارشی انجام گرفته‌است. Srinivasan (۲۰۱۸) پس از استخراج عصاره آبی سیاه دانه، به بررسی تاثیر آن بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در شرایط آزمایشگاهی پرداختند که در این مطالعه سیاه دانه موجب کاهش فعالیت این آنزیم گردید. Sathishkumar و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند پلی‌فنل‌های استخراج شده از سیاه دانه نیز موجب کاهش فعالیت آنزیم آمیلاز در شرایط آزمایشگاهی می‌شود. اما تاثیر این گیاه بر روی سایر آنزیم‌های گوارشی بررسی نشده است. می‌توان گفت که اثرات موادافزودنی در رژیم غذایی بر عملکرد آنزیم‌های گوارشی ممکن است بسته به نمونه مورد بررسی، گونه، اندازه، دوز ماده افزودنی، وضعیت تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی متفاوت باشد. از طرفی دو مطالعه ذکر شده در شرایط آزمایشگاهی و با بررسی پلی‌فنل‌های استخراج شده و عصاره آبی سیاه دانه انجام گرفتند، در حالی که مطالعه حاضر به بررسی اثرات روغن سیاه دانه در بدن ماهی پرداخت که می‌تواند عامل دیگری در نتایج متفاوت در این زمینه باشد. اما با توجه به افزایش معنی‌دار طول و وزن ماهی‌ها در گروه تیمار افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی منطقی به نظر می‌رسد؛ هرچند تحقیقات تکمیلی در این زمینه پیشنهاد می شود (Al-Dubakel *et al*., 2012). در کل نتایج این مطالعه نشان دهنده پتانسیل روغن سیاه دانه به میزان ۱/۵ درصد در بهبود عملکرد رشد، فعالیت آنتی‌اکسیدان و فعالیت آنزیم‌های گوارشی در ماهی سیچلاید الکتریک زرد است.

## تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز انجام گرفته‌است.

## ۵. منابع

## References

Aebi, H., 1974. Methds of enzymatic analysis. Bergmeyer, HU Chemie, Weinheim. Germany.

Ahmadifar, E., Sheikhzadeh, N., Roshanaei, K., Dargahi, N., Faggio, C., 2019. Can dietary ginger (*Zingiber officinale*) alter biochemical and immunological parameters and gene expression related to growth, immunity and antioxidant system in zebrafish (*Danio rerio*)? *Aquaculture* 507(-), 341-348.

Al-Dubakel, A.Y., Al-Mhawe, B.H., Majeed, M.F., Shaeyal, L.W., 2012. Preliminary study on the effect of dietary black seed (*Nigella sativa*) on growth and blood glucose of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Thi-Qar University Journal for Agricultural Researches* 2(2), 41-51.

Alishahi, M., Mesbah, M., 2012. Effects of *Viscum album* and *Nigella sativa* extracts on survival rate, growth factors and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in gold fish (*Carassius auratus*). *Journal of Veterinary Research* 67(3), 285-290.

Al–Kadhi, N.A., 2013. Effect of *Nigella sativa* seeds on the concentration of some plasma proteins. *Diyala Journal for Pure Sciences* 10(3), 65-80.

Awad, E., Austin, D.A., Lyndon, A.R., 2013. Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture 388-391(1), 193-197.

Awad, E., Awaad, A., 2017. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish and Shelfish Immunology* 67(-), 40-54.

Birnie-Gauyin, K., Costantini, D., Cooke, S.J., Willmore, W.G., 2017. A comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: A review. Fish and Fisheries 18(5), 928-942.

Bordoni, L., Fedeli, D., Nasuti, C., Maggi, F., Papa, F., Wabitsch, M., De Caterina, R., Gabbianelli, R., 2019. Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Nigella sativa* Oil in Human Pre-Adipocytes. Antioxidants (Basel) 8(2), 51.

Ekanem, J.T., Yusuf, O.K., 2008. Some biochemical and haematological effects of black seed (*Nigella sativa*) oil on T.brucei – infected rats. The African Journal of Biomedical Research 11, 70-85.

El Gendy, S., Hessien, M., Abdel Salam, I., Morad, M., EL-Magraby, K., Ibrahim, H.A., Kalifa, M.H., A. El-Aaser, A., 2007. Evaluation of the Possible Antioxidant Effects of Soybean and *Nigella Sativa* during Experimental Hepatocarcinogenesis by Nitrosamine Precursors. *Turkish Journal of Biochemistry* 32 (1), 5–11.

El-Mahmoudy, A., Matsuyama, H., Borgan, M.A., Shimizu, Y., El-Sayed, M.G., Minamoto, N., Takewaki, T., 2002. Thymoquinone suppresses expression of inducible nitric oxide synthase in rat macrophages. *International Immunopharmacology* 2(11), 1603-1611.

Gholamzadeh, M., Hosseini, H., Eskandari, S., Hosseini, E., Gholamzadeh, M., 2013. Antioxidant activity of black cumin (*Nigella sativa L.*) and black caraway (*Buniumpersicum Boiss*) extracts, individually and in combination on chemical changes and sensory properties of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) stored in refrigerator. *Journal of Food Hygiene* 3(11), 11-22.

Khalafalla, M., 2009. Utilization of some medical plants as feed additives for Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, feeds. *Mediterranean Aquaculture Journal* 2(2), 10-19.

Khondoker, S., Hossain, M.M., Uj-Jamam, H., Alam, E., Uz Zaman, F., Tabassum, N., 2016. Effect of *Nigella sativa* (Black Cumin Seed) to Enhance the Immunity of Common Carp ( *Cyprinus carpio* ) Against Pseudomonas fluorescens. *American Journal of Life Sciences* 4(3), 87-92.

King, J., 1972. Practical clinical enzymology. 2nd ed, London: the University of Michigan press. 250-286 P.

Mousavi, S., Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Alizadeh-Salteh, S., khani Oushani, A., Firouzamandi, M., Mardani, K., 2020. Administration of grape (*Vitis vinifera*) seed extract to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) modulates growth performance, some biochemical parameters, and antioxidant-relevant gene expression. *Fish Physiology and Biochemistry* 46(-), 777-786.

Nagi, M.N., Alam, K., Badary, O.A., 1999. Thymoquinone protects against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice via an antioxidant mechanism. *Biochemistry and molecular biology international* 47(1), 153–159.

Oz, M., Dikel, S., Durmus, M., 2018. Effect of black cumin oil (*Nigella sativa*) on the growth performance, body composition and fatty acid profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences* 17(4), 713-724.

Saemi-Komsari, M., Mousavi-Sabet, H., Kratochwil, C.F., Sattari, M., Eagderi, S., Meyer, A., 2018. Early developmental and allometric patterns in the electric yellow cichlid *Labidochromis caeruleus*. *Journal of fish biology* 92(6), 1888-1901.

Sathishkumar, T., Seetha Lakshmi, S., Archana, K., Aishwarya, M., Divya, S., Kumaresan, K., Stephen Raphael, V., Muthukumaran, V., Krishnaveni, V., 2017. Evaluation of in vitro cholesterol esterase and α-amylase inhibitory activities of purified polyphenols from *Nigella sativa* seeds. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences* 8(3), 327-335.

Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Khani Oushani, A., Najafi enferadi. H., 2012. Effects of *Haematococcus pluvialis* supplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiology and Biochemistry* 38, 413-419.

Sogut, B., Celik, I., Tuluce, Y., 2008. The Effects of Diet Supplemented with the Black Cumin (*Nigella sativa L.*) upon Immune Potential and Antioxidant Marker Enzymes and Lipid Peroxidation in Broiler Chicks. *Journal of Animal Veterinary advances* 7(10), 1196-1199.

Srinivasan, K., 2018. Cumin (*Cuminum cyminum*) and black cumin (*Nigella sativa*) seeds: traditional uses, chemical constituents, and nutraceutical effects. *Food Quality and Safety* 2(1), 1-16.

Umar, S., Zargan, J., Umar, K., Ahmad, S., Katiyar, C.K., Khan, H.A., 2012. Modulation of the oxidative stress and inflammatory cytokine response by thymoquinone in the collagen induced arthritis in Wistar rats. *Chemico-Biological Interactions* 197(1), 40-46.

Uz, E., Uz, B., Yusuf, S., Reyhan, B., Kaya, A., Hilmi Turgur, F., Mete, E., Aydin, K., Atilla I., Semsettin, S., Erdemli, H.K., 2008. Cardioprotective Effects of Nigella sativa Oil on Cyclosporine A-Induced Cardiotoxicity in Rats. *Basic and clinical pharmacology and toxicology* 103(6), 574-580.

Yaman, I., Balikci, E., 2010. Protective effects of nigella sativa against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 62(2), 183-190.

Zaoui, A., Cherrah, Y., Mahassini, N., Alaoui, K., Amarouch, H., Hassar, M., 2002. Acute and Chronic Toxicity of Nigella Sativa Fixed Oil. *Phytomedicine* 9(1), 69-74.