اثر عصاره اتانولی گیاه خارخاسک (*Terrestis tribulus*) روی فاکتورهای رشد و تولیدمثل درمولد و لارو ماهی دم‌شمشیری (*Xiphophorus helleri*)

- **شادی زمانی**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
- **محمدسوداگر***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
- **شهرام دادگر**: سازمان تحقیقات آموزش وترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران
- **حسین آدینه**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گنبد گاووس، ایران
- **عباسعلی حاجی بگلو**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۶

چکیده

در تحقیق حاضر اثر سطوح مختلف عصاره اتانولی گیاه خارخاسک (*Terrestis tribulus*) روی عملکرد تولیدمثلی و برخی فاکتورهای رشد در ماهی دم‌شمشیری و هم‌چنین روی رشد و بقاء در فرزندان نسل اول این ماهیان مورد بررسی قرار گرفت. ماهیان مولد با جیره حاوی سطوح مختلف عصاره گیاه خارخاسک، ۰ (شاهد یا تیمار ۱)، ۷۵۰ (تیمار ۲)، ۱۰۰۰ (تیمار ۳) و ۱۲۵۰ (تیمار ٤) میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره غذایی به‌مدت ۲ ماه تغذیه شدند. در پایان آزمایش نتایج نشان داد که اضافه کردن ۷۵۰ میلی‌گرم عصاره گیاه خارخاسک باعث افزایش معنی‌داری در وزن نهایی، طول نهایی، شاخص افزایش وزن بدن، درصد افزایش وزن بدن و نرخ رشد ویژه درمقایسه با تیمار شاهد بود ($P<0/05$). بیش‌ترین میزان هم‌آوری نسبی در تیمار ۲ مشاهده شد. شاخص گنادوسوماتیک نیز در تیمار ۲ بیش‌ترین مقدار را نشان داد. نتایج هم‌چنین نشان داد که بالاترین میزان لارو به مولد ماده در تیمار ۲ دیده شد ($P>0/05$). درصد بقا در لاروها معنی‌دار نبودند و بیش‌ترین وزن نهایی و طول نهایی لاروها در تیمار ۲ وکم‌ترین آن در تیمار ۱ مشاهده گردید. در مجموع نتایج نشان داد که استفاده از غلظت ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم گیاه خارخاسک در جیره مولدین ماهی ماده دم‌شمشیری می‌تواند باعث بهبود شاخص‌های رشد و عملکرد تولیدمثلی در مولد و هم‌چنین لاروها شود.

کلمات کلیدی: گیاه خارخاسک، دم‌شمشیری، فاکتورهای رشد و بقاء، تولیدمثل

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: sudagar_m@yahoo.com

مقدمه

از زمان‌های‌بسیار دور، گیاهان منابع بسیار ارزشمندی از ترکیبات دارویی برای انسان بوده‌اند. به‌عنوان مثال، استفاده از گیاهان در درمان ناباروری در انسان حداقل به ۲۰۰ سال قبل از میلاد مسیح برمی‌گردد. برخی از گیاهان منابع بسیار غنی از ترکیباتی مانند روغن‌های فرار، ساپونین‌ها، ترکیبات فنولی، تانن‌ها، آلکالوئیدها، پلی‌ساکاریدها و پلی‌پپتیدها هستند که دارای خواص گوناگون از قبیل: ضداسترس، اشتهاآور، نیروبخش، ضدمیکروب، ضدقارچ و تقویت‌کننده سیستم ایمنی بدن، تقویت‌کننده یا تضعیف‌کننده فعالیت‌های تولیدمثلی می‌باشند (Jain و همکاران، ۲۰۰۴). به‌طورکلی ترکیبات گیاهی در مقایسه با ترکیبات شیمیایی، سنتتیک و آنتی‌بیوتیک‌ها، اثرات جانبی مضر ندارند (یا به‌ندرت دارند)، ارزان‌تر بوده، فاقد ویژگی سمیت و انباشتگی زیان‌آور در بافت موجود زنده هستند، قابلیت تجزیه و بازگشت به محیط را دارا هستند و در کل ترکیبات با منشأ گیاهی در مقایسه با سایر مواد سازگاری بیش‌تری با محیط‌زیست دارند. از این‌رو ترکیبات با منشأ طبیعی یا دوست‌دار طبیعت، از قبیل عصاره‌های گیاهی می‌توانند جایگزین مناسبی برای این قبیل مواد باشند (Citarasu و همکاران، ۲۰۰۳). خارخاسک (*Terrestris tribulus*) گیاهی علفی، یک‌ساله، از دسته گیاهان گلدار و از تیره اسپندیان است. این گیاه دارای ساقه‌های خوابیده با انشعابات گسترده بر سطح خاک و پوشیده از تار که برگ و ساقه‌های جوان آن را تارهای ظریف ابریشمی می‌پوشاند. این گیاه پراکندگی وسیعی در نواحی مختلف کره زمین دارد و در اقلیم آب و هوایی گرمسیر و نیمه‌گرمسیر یافت می‌شود، به‌طوری‌که می‌توان آن را در اغلب نواحی دنیا مشاهده کرد. دامنه انتشار گیاه دارویی خارخاسک در نواحی خشک و نیمه‌خشک کشور ایران است. مناطق شمالی استان گلستان یکی از مناطق مستعد برای رویش این گیاه می‌باشد. در مناطق مختلف ایران گیاه خارخاسک با نام‌های رایج و محلی بنام خارسوهک، هنج، حسک، خرخاسک، هوروا و سه کوهک شناخته شده است (Yan و همکاران، ۱۹۹۶). این گیاه به‌دلیل داشتن ساپونین‌های استروئیدی توانایی بهبود عملکرد تخمدان و افزایش تعداد فولیکول‌ها در تخمدان را دارد اما تحقیقات در این زمینه بسیار محدود می‌باشد (Conrad و همکاران، ۲۰۰۴). برخی از مطالعات تاثیر گیاه خارخاسک بر سیستم تولیدمثل جنس نر (انسان) را مورد ارزیابی قرار داده‌اند که نشان از تاثیرپذیری مثبت این گیاه بر اسپرماتوژنز می‌باشد. گیاه خارخاسک به‌علت داشتن گلیکوزیدهای استرادیول که مهم‌ترین آن‌ها پروتودیوسین است موجب افزایش تستوسترون می‌شود. استرادیول‌های طبیعی در این ترکیب ممکن است به‌عنوان یک واسطه، مسیر تولید آندروژن از استرادیول را تسهیل کنند و به این ترتیب باعث افزایش هورمون تستوسترون می‌گردد که این هورمون نیز به‌نوبه خود باعث افزایش اسپرماتوژنز می‌شود (Ebisch و همکاران، ۲۰۰۷). Kalamegam و همکاران (۲۰۰۸)، اثرات هورمونی گیاه خارخاسک در خرگوش و موش صحرایی برای تعیین مفید بودن آن در مدیریت اختلال نعوظ (ED) مورد بررسی قرار دادند. خرگوش‌ها و موش‌های نرمال به‌صورت خوراکی با غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلو گرم خارخاسک به‌صورت خوراکی به‌مدت ۸ هفته تحت درمان مزمن قرار گرفتند. در نتیجه در مطالعه حاضر، هورمون‌های تستوسترون و دی هیدروتستوسترون به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. در خرگوش‌ها غلظت ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم معنی‌دار بود. در موش‌ها غلظت ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم معنی‌دار بود. Zheleva و همکاران (۲۰۱۲) تحقیقاتی در زمینه گیاه خارخاسک انجام دادند. تزریق خارخاسک به انسان‌ها و حیوانات باعث افزایش میل جنسی و اسپرماتوژنز می‌شود. مطالعات بالینی نشان می‌دهد که خارخاسک عملکرد تولیدمثل را بهبود می‌بخشد، از جمله افزایش غلظت هورمون‌هایی نظیر استرادیول و تستوسترون که به‌شدت تحت تاثیر قرار می‌گیرد، به این ترتیب باعث بهبود عملکرد تولیدمثل، میل جنسی و تخمک‌گذاری می‌شود. گزارش شده است که خارخاسک باعث افزایش کل فولیکول‌های تخمدان موش در گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی این گیاه و کاهش تعداد فولیکول‌های آتروفیک گردید که نشان‌دهنده اثرات مثبت این گیاه در بهبود عملکرد تخمدانی و متعاقب آن دستگاه تناسلی ماده است. تاکنون اثرات گیاه خارخاسک بر عملکرد رشد و تولیدمثل ماهیان مورد تحقیق و آزمایش قرار نگرفته است (رضائی و همکاران ۱۳۹۲). مقایسه اثرات فیتواستروژن تخم گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) و ۱۷ بتا استرادیول بر بافت تخمدان و کبد ماهی ماده نابالغ گورامی سه‌خال نشان داد که با افزایش غلظت تزریق عصاره (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) شاخص گنادوسوماتیک (GIS) و شاخص کبدی (HIS) و هم‌چنین قطر اووسیت‌ها افزایش پیدا می‌کند ولی این افزایش در تیمار تزریقی ۱۷ بتا استرادیول بارزتر است (ناجی و همکاران، ۱۳۹۳).

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر به‌مدت ۲ ماه در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. تعداد ۱۴۴ قطعه ماهی دم‌شمشیری دو و نیم ماهه (۱۰۸ قطعه ماهی ماده و ۳۶ قطعه ماهی نر) با میانگین وزنی ۰/۱±۰/۶گرم در ۴ تیمار آزمایشی و هریک با ۳ تکرار در ۱۲ عدد آکواریوم با ابعاد۶۰×۴۰×۳۰ سانتی‌متر توزیع شدند. آکواریوم‌ها توسط پمپ هواده مرکزی به‌طور یکسان هوادهی شد. هر آکواریوم به یک دماسنج و یک فیلتر تصفیه مجهز گردید. در

طول دوره آزمایش pH آب ۷ تا ۸/۵ و دمای آب توسط بخاری در محدوده ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. غذادهی به‌صورت روزانه در ۴ نوبت در حد سیری انجام گردید. برای تهیه عصاره اتانولی ابتدا گیاه خارخاسک (کل گیاه به‌جز ریشه) در سایه خشک شده و سپس به کمک آسیاب پودر گردید. پودر گیاه به نسبت حجمی ۱:۱۰ با استفاده از اتانول ۹۶ درصد به‌مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد. در نهایت مخلوط حاصل دو بار از کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) عبور داده شد. برای به‌دست آوردن عصاره پودری خشک، ابتدا عصاره صاف شده، به کمک دستگاه تبخیرکننده چرخشی (IKA®RV 05 basic, Germany) در دمای ۴۰ درجه‌سانتی‌گراد تغلیظ (رسیدن به حجم یک دوم) گردید. سپس عصاره تغلیظ شده در دستگاه خشک‌کن انجمادی (Alpha-2 LD plus, Germany) به عصاره پودر خشک تبدیل شد. عصاره حاصل تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد باقی ماند. (حاجی بگلو و همکاران، ۱۳۹۳؛ نظری و روزبهانی، ۱۳۹۴). برای تهیه جیره غذایی ماهیان، خوراک تجاری آبزیان (شرکت بیومار فرانسه) با آسیاب کاملاً پودر شد سپس با افزودن عصاره گیاه به آن، ۴ سطح صفر، ۷۵۰، ۱۰۰۰ و ۱۲۵۰ میلی‌گرم عصاره بر کیلوگرم غذای تجاری تهیه گردید (نظری و روزبهانی، ۱۳۹۴). در نهایت به هر یک از جیره‌ها آب افزوده شد. خمیر به‌دست آمده از الک با قطر چشمه ۰/۵ میلی‌متر عبور داده شد. سپس در دمای اتاق خشک شده و پس از بسته‌بندی تا زمان شروع آزمایش در یخچال نگه‌داری شدند. در این آزمایش شاخص‌های رشد و تولیدمثلی مولدین شامل: طول، وزن، درصد بقا، شاخص گنادوسوماتیک، هم‌آوری نسبی، زمان رسیدن به بلوغ جنسی اندازه‌گیری شد. هم‌چنین شاخص‌های رشد لاروها شامل: طول، وزن، ناهنجاری اسکلتی و درصد بقا محاسبه گردید.

شاخص گنادوسوماتیک (GSI) (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۷):

۱۰۰×[وزن مولد ماده(گرم)/ وزن تخمدان (گرم)]= شاخص گنادی

درصد بقای بچه ماهیان (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۷):

۱۰۰×(تعداد لاروهای زنده در پایان آزمایش/ تعداد کل لاروهای متولدشده)=درصد بقا لارو

میزان هم‌آوری نسبی (Chong و همکاران، ۲۰۰۴):

=هم‌آوری نسبی

(میانگین تعداد وزن مولد ماده(گرم)/میانگین تعداد لاروهای متولدشده در کل دوره آزمایش)

شاخص رشد (سجادی و همکاران، ۱۳۹۲):

میانگین وزن اولیه – میانگین وزن نهایی = WG افزایش وزن بدن

WG% = درصد افزایش وزن بدن

۱۰۰×میانگین وزن اولیه/(میانگین وزن اولیه – میانگین وزن نهایی)

= ضریب رشد ویژه

((لگاریتم میانگین وزن نهایی–لگاریتم میانگین وزن اولیه)/تعداد روزهای آزمایش)×۱۰۰

۱۰۰×(طول نهایی مولد ماده به توان سه/وزن نهایی مولد ماده)=شاخص وضعیت

آنالیز آماری با استفاده از بسته‌های نرم‌افزاری Excel و Spss انجام گردید. آنالیز آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها به‌کمک آزمون دانکن انجام گرفت. وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد (P<۰/۰۵) تعیین گردید.

نتایج

فاکتورهای رشد در ماهیان تغذیه شده با عصاره گیاه خارخاسک: در جدول ۱ میانگین شاخص‌های رشد در مولدین ماده دم شمشیری تغذیه شده با جیره‌های حاوی عصاره گیاه خارخاسک آمده است. میانگین وزن اولیه و طول اولیه مولدین ماده در هر چهار تیمار آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). کم‌ترین وزن نهایی و طول نهایی مولدین ماده مربوط به تیمار ۱ و بیش‌ترین آن مربوط به تیمار ۲ مشاهده شد. طول نهایی بین چهار تیمار اختلاف معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰۵). بیش‌ترین وزن نهایی در تیمارهای ۲ و ۳ مشاهده شد (P<۰/۰۵) اما بین تیمارهای ۱ و ۴ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. درصد افزایش وزن بدن در تیمار ۱ به‌طور معنی‌داری کم‌تر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵) (جدول ۱). نتایج هم‌چنین نشان می‌دهد که نرخ رشد ویژه بین تیمار ۱ با تیمار ۲ اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵). ولی بین تیمارهای ۳ و ۴ اختلاف معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) کم‌ترین میزان ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۳ گزارش شد (P<۰/۰۵). تغییرات میزان شاخص وضعیت (KF) در تیمارهای مختلف روند منظمی نداشت (P>۰/۰۵) اما در تیمار ۴ کم‌ترین مقدار مشاهده شد(جدول ۱). طبق نتایج به‌دست آمده درصد بقا در همه تیمارها تقریباً با یکدیگر برابر بود و اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد(P>۰/۰۵). باتوجه به جدول کم‌ترین هم‌آوری نسبی در تیمار ۱ (شاهد) مشاهده شد (P<۰/۰۵). به‌طور مشابه شاخص گنادوسوماتیک در تیمار شاهد کم‌تر از سایر تیمارها بود (جدول ۱).

فاکتورهای تولیدمثلی و بقا در لاروها: در جدول ۲، مقادیر میانگین رشد، بقاء و عملکرد تولیدمثلی در فرزندان نسل اول ماهیان دم شمشیری مشاهده می‌شود. میانگین وزن اولیه در لاروهای حاصل از مولدینی که با عصاره گیاه خارخاسک تغذیه شده‌اند اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). وزن نهایی در تیمار ۱ به‌طور معنی‌داری کم‌تر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵). بیش‌ترین وزن نهایی در تیمار ۲ و کم‌ترین آن در تیمار ۱ مشاهده شد. نتایج طول اولیه و طول نهایی نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با یکدیگر نبود (P>۰/۰۵).

جدول ۱: رشد و بقاء در ماهیان دم‌شمشیری تغذیه شده با جیره‌های حاوی گیاه خارخاسک

شاخص‌های رشد	تیمار۱ (شاهد) (۰)	تیمار ۲ (۷۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)	تیمار ۳ (۱۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)	تیمار۴ (۱۲۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)
وزن اولیه (گرم)	۰/۵۱۰±۰/۰۲۶^{a}	۰/۵۱۶±۰/۱۹^{a}	۰/۵۳۳±۰/۰۱۵^{a}	۰/۵۱۵±۰/۰۳۰^{a}
وزن نهایی (گرم)	۰/۹۳۲±۰/۰۱۷^{c}	۱/۰۹۶±۰/۰۶۸ ^{a}	۱/۰۷۲±۰/۴۴۶^{ab}	۰/۹۶۳±۰/۰۱۸^{bc}
افزایش وزن (گرم)	۰/۰±۴۲۲/۰۲۸^{c}	۰/۰±۵۸۰/۰۶۱^{a}	۰/۰±۵۳۹/۰۳۱ ^{ab}	۰/۰±۴۴۸/۰۴۷^{bc}
طول اولیه (سانتی‌متر)	۲/۰±۶۲۰/۱۵۸^{a}	۲/۰±۶۴۶/۱۰۴^{a}	۲/۰±۵۲۳/۱۴۸^{a}	۲/۰±۴۸۰/۱۴۷^{a}
طول نهایی (سانتی‌متر)	۳/۰±۳۰۲/۰۶۳^{b}	۳/۰±۶۱۰/۰۴۰^{a}	۳/۰±۴۹۳/۰۹۷^{a}	۳/۰±۵۸۰/۰۳۴^{a}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۱/۰±۰۰۷/۰۸۶^{b}	۱/۰±۲۵۵/۰۹۴^{a}	۱/۰±۱۶۳/۳۲۹^{ab}	۱/۰±۰۴۴/۱۲۹^{ab}
ضریب تبدیل غذایی	۳/۰±۵۵۹/۲۳۴^{a}	۲/۰±۶۰۳/۲۹۲ ^{a}	۲/۰±۷۸۹/۱۶۷^{b}	۳/۰±۳۷۲/۳۴۱^{ab}
درصد افزایش وزن بدن	۸۳/۹±۱۸۸/۶۳۲ ^{b}	۱۱۲/۱۲±۵۸/۰۴۲^{a}	۱۰۱/۳±۰۳/۹۵۸^{ab}	۸۷/۱۴±۴۶۴/۸۱۴^{ab}
شاخص وضعیت	۲/۰±۵۹۵/۱۷۹^{a}	۲/۰±۳۳۱/۱۸۳^{ab}	۲/۰±۵۲۳/۲۴۶^{ab}	۲/۰±۱۰۱/۰۷۷^{b}
هم‌آوری نسبی	۷/۰±۴۹۴/۹۳۵ ^{b}	۱۰/۱±۶۸۱/۱۰۰ ^{a}	۸/۱±۹۹۲/۱۶۳ ^{ab}	۹/۰±۳۳۹/۹۷۱^{ab}
شاخص گنادوسوماتیک	۴/۰±۳۱۱/ ۱۰۱^{b}	۷/۱±۷۴۹/ ۴۶۷^{a}	۶/۰±۲۵۸/۷۷۴^{ab}	۷/۰±۲۶۳/۴۷۶^{a}
درصد بقا	۷۷/۴±۷۷۷/۸۱۱^{a}	۷۵/۰۰۰±۸/۳۳۳^{a}	۷۲/۲۲۳±۱۲/۷۲۹^{a}	۶۳/۸۸۸±۴/۸۱۱^{a}

در هر ردیف حروف انگلیسی متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۲ بیانگر آن است که بیش‌ترین افزایش وزن بدن در تیمار ۲ و کم‌ترین آن در تیمار ۱ مشاهده شد. هم‌چنین کم‌ترین درصد افزایش وزن بدن در تیمار ۱ و بیش‌ترین آن در تیمار ۲ گزارش شد (P<۰/۰۵). کم‌ترین نرخ رشد ویژه در تیمار ۱ و بیش‌ترین‌مقدار آن در تیمار ۲ مشاهده شد (P<۰/۰۵) اما بین تیمارهای ۲ با ۳ و نیز بین تیمارهای ۱ با ۴ اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. با توجه به جدول ۲ بیش‌ترین ضریب تبدیل غذایی در تیمار ۱ و کم‌ترین آن در تیمار ۲ مشاهده شد (P<۰/۰۵). شاخص وضعیت و نیز درصد بقا بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری‌با یکدیگر نداشتند(P>۰/۰۵).نتایج‌هم‌چنین نشان‌داد‌که کم‌ترین‌و بیش‌ترین‌میزان‌نسبت لاروهای حاصل به مولدین به‌ترتیب در تیمارهای ۴ و ۲ مشاهده شد. درصد لاروهای معیوب در هر ۴ تیمار مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (P>۰/۰۵) (جدول ۲).

جدول ۲: رشد و بقاء و عملکرد تولیدمثلی در فرزندان نسل اول ماهیان دم شمشیری

شاخص‌های رشد	تیمار۱ (شاهد) (۰)	تیمار ۲ (۷۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)	تیمار ۳ (۱۰۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)	تیمار۴ (۱۲۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)
وزن اولیه لارو (گرم)	۰/۰±۰۰۵/۰۰۰^{a}	۰/۰±۰۰۵/۰۰۰^{a}	۰/۰±۰۰۵/۰۰۰^{a}	۰/۰±۰۰۵/۰۰۰^{a}
وزن نهایی لارو (گرم)	۰/۰±۲۰۴/۰۰۴^{c}	۰/۰±۲۷۶/۰۱۶ ^{a}	۰/۰±۲۶۸/۰۱۸^{ab}	۰/۰±۲۴۰/۰۲۰^{b}
افزایش وزن (گرم)	۰/۰±۱۹۸/۰۰۵^{c}	۰/۰±۲۷۱/۰۱۶^{a}	۰/۰±۲۶۲/۰۱۸ ^{ab}	۰/۰±۲۳۵/۰۲۰^{b}
طول اولیه لارو (سانتی‌متر)	۰/۰±۵۵۰/۰۵۰^{a}	۰/۰±۶۱۶/۰۳۵^{a}	۰/۰±۵۸۳/۰۵۰^{a}	۰/۰±۵۹۰/۰۶۵^{a}
طول نهایی لارو (سانتی‌متر)	۲/۰±۸۱۰/۱۰۴^{a}	۲/۰±۷۴۱/۱۸۰^{a}	۲/۰±۷۶۷/۲۸۲^{a}	۲/۰±۸۰۰/۲۲۹^{a}
نرخ رشد ویژه (درصد در روز)	۵/۰±۵۰۰/۱۱۰^{c}	۶/۰±۱۰۴/۰۲۴^{a}	۶/۰±۰۹۳/۰۳۲^{a}	۵/۰±۸۷۶/۱۷۴^{b}
ضریب تبدیل غذایی	۳/۰±۳۲۰/۰۸۳^{a}	۲/۰±۴۳۷/۱۴۳ ^{c}	۲/۰±۵۱۹/۱۸۳^{bc}	۲/۰±۸۲۳/۲۶۰^{b}
درصد افزایش وزن بدن	۳۴۷۷/۲۵۲±۱۵/۷۱۳^{c}	۵۱۸۶/۸۶±۱۰/۰۳۹^{a}	۵۱۵۰/۱۱۰±۷۷/۱۹۴^{a}	۴۴۷۷/۵۱۹±۴۸/۹۵۶^{b}
شاخص وضعیت	۰/۰±۹۲۶/۱۰۲^{a}	۱/۰±۳۵۹/۲۲۸^{a}	۱/۰±۳۰۰/۳۰۴^{a}	۱/۰±۱۲۹/۳۳۶^{a}
نسبت لارو به مولد	۷/۰±۵۱۸/۷۱۴ ^{b}	۸/۰±۶۶۶/ ۱۱۱^{a}	۸/۰±۱۴۸/۳۹۰ ^{ab}	۶/۰±۲۵۹/۵۷۰^{c}
درصد بقا	۸۲/۳±۸۹۷/۰۹۲^{a}	۷۹/۰±۹۰۶/۹۶۶^{a}	۸۱/۲±۸۹۹/۵۴۵^{a}	۷۷/۶±۵۴۴/۰۳۰^{a}
درصدلاروهای معیوب	۱/۰±۰۴۱/۹۰۲^{a}	۱/۱±۲۷۶/۲۸۲^{a}	۰/۰±۴۵۶/۷۹۰^{a}	۱/۱±۸۵۳/۸۱۹^{a}

در هر ردیف حروف انگلیسی متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن عصاره خارخاسک به جیره غذایی ماهیان دم‌شمشیری سبب افزایش عملکرد تولیدمثلی ازقبیل هم‌آوری نسبی، شاخص گنادوسوماتیک، درصد بقای بچه‌ماهی، طول و وزن لارو و نیز افزایش نسبت تعداد لارو به‌ازای مولد ماده شد. نتایج این آزمایش هم‌چنین نشان داد که ماهیان تغذیه شده با عصاره خارخاسک وزن نهایی بالاتر و ضریب تبدیل غذایی پایین‌تری داشتند. فلاونوئیدهادارای اثرات ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، کاهندگی کلسترول خون، ضدالتهاب و اثر مثبت روی عملکرد قلب هستند. علاوه‌براین، این ترکیبات فعالیت بیوشیمیایی نیز دارند که یکی از مهم‌ترین اثرات این ترکیبات در این بخش، اثر بر هورمون‌ها می‌باشد. فلاونوئیدها به‌واسطه پیوند با ۱۷بتاهیدروکسی استروئید دهیدروژنازها که تنظیم‌کننده سطح استروژن و آندروژن در انسان و ۳بتاهیدروکسی استروئید دهیدروژناز که تنظیم‌کننده سطح پروژستین و آندروژن هستند، اثر تنظیم‌کنندگی خود را روی هورمون‌ها بروز می‌دهند. از طرفی، کوئرستین، کمپفرول، میریستین و روتین انتقال، متابولیسم و عمل هورمون‌های تیروئید را تحت تأثیر قرار می‌دهند (حاجی‌بگلو، ۱۳۹۳). به‌طور مشابه گزارش شده است که گیاه خارخاسک نیز حاوی مقادیر قابل توجه از ترکیبات فلاونوئیدی است (Zheleva و همکاران، ۲۰۱۲). فلاونوئیدها جزء دسته‌ای از ترکیبات به‌نام فیتواستروژن‌ها هستند (Panjeshahin و همکاران، ۲۰۰۵). فیتواستروژن‌ها ترکیبات طبیعی مشتق از گیاهان است که عملاً ساختمانی مشابه استروژن دارند و می‌توانند بر روی هورمون‌های جنسی مؤثر بوده و هم‌چنین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدآلرژی، ضدالتهابی و ضدسرطانی هستند. فلاونوئیدها متعلق به دسته‌ای از مواد طبیعی با ساختمان‌های فنولی هستند که خواص آنتی‌اکسیدانی دارند. ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی فنولی و پلی‌فنولی از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی در گیاهان هستند که در بسیاری از تحقیقات، به‌منظور مطالعه خواص آنتی‌اکسیدانتی یک گیاه، ترکیبات فنولی مورد بررسی قرار می‌گیرد (حاجی‌بگلو، ۱۳۹۳).

فیتواستروژن‌ها یا استروژن‌های گیاهی اگرچه از نظر اثرگذاری نسبت به استروژن‌های اندروژنی ضعیف‌تر هستند، اما اثرات مشابهی در بدن ایجاد می‌کنند. ثابت شده است که آنتی‌اکسیدانت‌ها از اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد بر روی تخمدان، اسپرم و اندام‌های تولیدمثلی محافظت می‌کنند. ازجمله این آنتی‌اکسیدانت‌ها می‌توان به ویتامین‌های C، E و سلنیوم اشاره نمود. تحقیقات نشان داده است که خواص آنتی‌اکسیدانتی کاتکین چای سبز تقریباً ۱۰۰ بار بیش‌تر از ویتامین C و ۲۵ مرتبه بیش‌تر از ویتامین E می‌باشد (حاجی‌بگلو، ۱۳۹۳). در تحقیق مشابه، Rao و همکاران (۲۰۰۶) نیز نشان دادند که تغذیه بچه‌ماهیان روهو (*Labeo rohita*) با دانه‌های گیاه (*Achyranthes aspera*) موجب افزایش نرخ رشد، افزایش ضریب رشد ویژه و کاهش ضریب تبدیل غذایی می‌شود. هم‌چنین Sivaram و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که در یک دوره ۱۲ هفته‌ای، افزودن عصاره‌های متانولی (عصاره پودری) دو گیاه ریحان (*Ocimum sanctum*) و پنیر باد (*Withania somnifera*) به جیره غذایی بچه‌ماهیان گروپر (*Greasy groupers*)، موجب افزایش وزن و افزایش ضریب رشد ویژه در ماهیان می‌شود. (حاجی‌بگلو، ۱۳۹۳) نیز نشان داد که تغذیه میگوهای پنئوس مونودن (*Penaeus monodon*) با جیره حاوی گیاه پنیر باد (*Withania somnifera*) سبب افزایش وزن و افزایش ضریب رشد ویژه میگوها می‌شود. هم‌چنین گزارش شده است که استفاده از گیاه (*Gynostemma pentaphyllum*) در جیره غذایی ماهی کپورعلف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*) سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش وزن و افزایش ضریب رشد ویژه می‌شود (Wu و همکاران، ۱۹۹۸). با توجه به نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر، افزودن گیاه خارخاسک نیز به جیره غذایی آبزیان توانست اثر مثبتی بر وزن نهایی، طول نهایی و ضریب رشد ویژه داشته باشد، هم‌چنین این گیاه توانست ضریب تبدیل غذایی بهتری نسبت به تیمار شاهد ایجاد کند.

حاجی‌بگلو و سوداگر (۱۳۹۳)، نشان دادند که تاثیر سطوح مختلف عصاره اتانولی گیاه انجیر (*Ficus benghalensis*) تاثیر مثبتی روی عملکرد تولیدمثلی و برخی فاکتورهای رشد در ماهی دم شمشیری داشت. به‌طورکلی تولید لاروهای سالم با کم‌ترین میزان ناهنجاری‌ها، علاوه بر وراثت و عوامل محیطی به تغذیه نیز بستگی دارد. در رابطه با تغذیه، متعادل بودن جیره غذایی مولدین به‌ویژه از نظر اسیدهای چرب ضروری (اسیدآراشیدونیک، اسیددوکازاهگزانوئیک و اسیدایکوزاپنتانوئیک) بسیار قابل توجه می‌باشد. بنابراین نقش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره بر اسید های چرب ضروری در این‌جا اهمیت می‌یابد.

Wang و همکاران (۲۰۰۸) در آزمایشی اثر برخی از گیاهان دارویی ((*Fructus lycii*)، (*Fructus ligustri lucidi*)، (*Herba epimedii*) و (*Cortex eucommiae*)) را روی عملکرد تولیدمثلی گربه‌ماهی زرد (*Pelteobagrus fulvidraco*) در هر دو جنس نر و ماده مورد بررسی قرار دادند. نتایج تحقیقات آن‌ها نشان‌داد شاخص گنادوسوماتیک، هم‌آوری و تعداد لارو در ماهیان ماده‌ای که با جیره غذایی حاوی دو گیاه فروکتوس لیسی، فروکتوس لیگوستری تغذیه شده بودند به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود. هم‌چنین میزان اسیدهای چرب غیراشباع n-3 گناد و عضلات در ماهیان ماده تغذیه شده با گیاهان مذکور به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود. با توجه به نتایج این تحقیق، افزودن گیاه خارخاسک

به جیره غذایی سبب شده است که تعداد لاروها در تیمار دوم نسبت به تیمار شاهد بیش‌ترین سطح را داشته باشد، هم‌چنین شاخص گنادوسوماتیک نیز در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها در پایین‌ترین سطح قرار دارد.

Telefo و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که عصاره گیاه آلوئه‌ورا (Aloe Vera) محتوی ترکیبات فیتواستروژنی ازقبیل بتاسیسترول است که سبب افزایش میزان استروژن تخمدان می‌شود. Poorfarid و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان دادند که عصاره گیاه آلوئه‌ورا (Aloe Vera) دارای ترکیباتی با خواص مشابه هورمون FSH است که سبب افزایش رشد و تکامل فولیکول‌ها و در نتیجه موجب افزایش ترشح استروژن از سلول‌های فولیکولی می‌شود. Pokharkar و همکاران (۲۰۱۰) در این آزمایش نیز به‌طور مشابه خارخاسک دارای ترکیبات فیتواستروژنی است. بنابراین دارای اثرات استروژنی است که می‌تواند بر روی سیستم عصبی مرکزی (آبزی) اثر گذاشته و سبب القاء و تحریک تقسیمات سلولی بدن و رشد اندام‌های تولیدمثلی در جنس ماده شود. بنابراین بالاتر بودن وزن بدن و گنادها را می‌توان به این دلیل نسبت داد.

حاجی‌بگلو و همکاران (۱۳۹۳)، نشان دادند که افزودن پودر دانه‌های گیاه *Garcinia kola* به جیره غذایی مولدین گربه‌ماهی افریقایی (*Clarias gariepinus*) سبب افزایش درصد لقاح، افزایش درصد هچ شدن تخم‌ها و افزایش میزان بقای لاروها می‌شود. گزانتون و بایفلاونوئید ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی هستند که در تولید استروژن نقش اساسی دارند. استروژن هورمون کلیدی در تولید و بلوغ تخم‌ها در تخمدان می‌باشد. از این‌رو بالا رفتن عملکرد تولید مثلی در ماهیان مورد مطالعه را می‌توان به وجود گزانتون و بایفلاونوئید نسبت داد. به‌طور مشابه، ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی گزانتون و بایفلاونوئید موجود در گیاه *G. kola*، به‌دلیل نقشی که در تولید هورمون استروژن در مولدین گربه‌ماهی افریقایی دارند، سبب افزایش عملکرد تولیدمثلی می‌شوند. گیاه خارخاسک نیز دارای خواص آنتی‌اکسیدانی مشابه است. احتمالاً در تحقیق حاضر عصاره مذکور از طریق کاستن اثرات عوامل استرس‌زا، تقویت و بهبود سیستم ایمنی بدن در مجموع توانسته است سبب بهبود وضعیت سلامت عمومی و افزایش کارایی هضم و جذب غذا در دستگاه گوارش شود و در نهایت منجر به بهبود عملکرد رشد ماهیان شود. ماهیان تغذیه شده با جیره‌های غذایی حاوی عصاره خارخاسک در مقایسه با تیمارهای شاهد، میزان ضریب تبدیل غذایی کم‌تر، ضریب رشد ویژه بیش‌تر و وزن نهایی بدن بالاتری دارند. به‌عبارت دیگر عصاره گیاه توانسته است سبب بهبود عملکرد رشد ماهیان شود.

در این آزمایش در مجموع، تیمار ۲ و ۳ عملکرد بهتری از نظر رشد از خود نشان دادند. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این آزمایش عصاره گیاه خارخاسک نه‌تنها در رشد بلکه در تولیدمثل ماهی دم شمشیری نیز موثر بوده است. می‌توان از این گیاه در بهبود عملکرد مولدین استفاده نمود. برای افزایش رشد بهتر و هم‌چنین تولید لاروهای بیش‌تر با بقا و رشد بهتر موثر می‌باشد. بنابراین استفاده از غلظت ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم عصاره گیاه خارخاسک بر کیلوگرم جیره پیشنهاد می‌شود.

منابع

۱. **حاجی بگلو، ع.، ۱۳۹۳.** تاثیر ریزپوشانی و استفاده از عصاره اتانولی کورکوروس الیتوریوس و فیکوس بنگهالنسیس بر عملکرد تولیدمثلی و شاخص‌های رشد در ماهی دم‌شمشیری (*Xiphophorus helleri*). پایان‌نامه دکتری. دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. صفحات ۱۰ تا ۱۳۸.

۲. **حاجی‌بگلو، ع.؛ سوداگر، م.؛ حسینی، س،ع. و جعفری، س،م.، ۱۳۹۳.** بررسی اثر سطوح مختلف عصاره اتانولی *Corchorus olitorius* برروی برخی فاکتورهای تولیدمثلی و رشد در ماهی دم‌شمشیری (*Xiphophorus helleri*). فصلنامه علمی پژوهشی محیط زیست جانوری. سال ۶، شماره ۴، صفحات: ۴۷ تا ۵۶.

۳. **حسن‌زاده، ا.؛ رضازاده، ش.؛ شمسا، ف.؛ دولت‌آبادی، ر. و زرین‌قلم، ج.، ۱۳۸۹.** مروری بر خواص درمانی و فیتوشیمیایی شنبلیله (*Fenu greek*) . فصلنامه گیاهان دارویی. سال ۹، دوره ۲، صفحات ۲ تا ۳.

۴. **رضائی، آ.؛ روزبه، م.؛ گورانی‌نژاد، س.؛ نجف‌زاده‌ورزی، ح.؛ فاطمی‌طباطبایی، س.ر. و پورمهدی‌بروجنی، م.، ۱۳۹۲.** مطالعه اثرات حمایتی عصاره آبی-الکلی خارخاسک و ویتامین C بر تغییرات ناشی از سیکلوفسفامید در تخمدان رت. فیزیولوژی و فارماکولوژی، سال ۲، شماره ۱۷، صفحات ۱۹۴ تا ۲۰۳.

۵. **روزبهانی، ش. و نظری، ع.، ۱۳۹۴.** تاثیر عصاره اتانولی رازیانه (*Foenicolum vulgar*) بر رشد و باروری ماهی گوپی (*Pocilia reticulate*). نشریه توسعه آبزی‌پروری. سال ۹، شماره ۳، صفحات ۳۰ تا ۳۵.

۶. **سجادی، م.؛ طاهری‌کندر، ا.؛ سوری‌نژاد، ا.؛ دریایی، ع.؛ میرزاده، ق. و خادمی، ف.، ۱۳۹۲.** تاثیر افزودن مکمل ان-کارنیتین به جیره غذایی بر شاخص‌های رشد و بازماندگی ماهی صبیتی *Sparidentex hasta*. دوره ۳، شماره ۳، صفحات ۳۷ تا ۳۹.

۷. **ناجی، ط.؛ شهروزی‌فر، پ. و حسین‌زاده، ه.، ۱۳۹۳.** مقایسه اثرات فیتواستروژن تخم گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L) و ۱۷ بتا استرادیول بر بافت تخمدان و کبد ماهی نابالغ گورامی سه‌خال. مجله پژوهش‌های بالینی دامپزشکی، دوره ۵، شماره ۲، صفحات ۱۲۵ تا ۱۳۴.

۸. **Chong, A.S.C.; Ishak, S.D. and Osman, Z.R., 2004.** Effect of dietary protein level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). Aquaculture. Vol. 234, pp: 381-392.

۹. **Citarasu, T.; Michael-Babu, M.; Raja-JeyaSekar, R. and Peter-Marian, M., 2002.** Developing Artemia enriched Herbal diet for producing quality larvae in Penaeus monodon, Fabricius.AsianFish.Sci.Vol. 15, 32 p.

۱۰. **Conrad, J.; Dinchev, D.; Klaiber, I.; Mika, S.; Kostova, I. and Kraus, W., 2004.** A novel furostanol saponin from *Tribulus terrestris* of Bulgarian origin. Fitoterapia. Vol. 75, pp: 117-122.

۱۱. **Dahlgren, B.T., 1980.** The effects of three different dietary protein levels on the fecundity in the guppy, Poecilia reticulate (Peters). Journal of Fish Biology. Vol. 16, pp: 83-97.

۱۲. **Ebisch, I.M.; Thomas, C.M.; Peters, W.H.; Braat, D.D. and Steegers-Theunissen, R.P., 2007.** The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and subfertility. Journal Human Reproduction Up date. Vol. 13, No. 2, pp:163-174.

۱۳. **Ghosh, S.; Sinha, A. and Sahu, C., 2007.** Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish. Aquaculture Research. Vol. 38, pp: 518-526.

۱۴. **Htun-Han, C., 1979.** The reproduction biology of the Dab *Limnda limnda* in the North Sea. Gonadosomatic index, Hepato somatic index and condition factor. Journal of Fish Biology. Vol. 1, pp: 369-378.

۱۵. **Jain A.; Katewa, S.S.; Chaudhary, B.L. and Galav, P., 2004.** Folk herbal medicine used in birth control and sexual diseases by tribals of southern Rajasthan, India. J of Ethnopharmacology. Vol. 90, pp: 171-177.

۱۶. **Kalamegam, K. and Ganesan, A.P., 2008.** The hormonal effects of Tribulus terrestris and its role in the management of male erectile dysfunction an evaluation using primates, rabbit and rat. Phytomedicine. Vol. 15, 54 p.

۱۷. **Panjeshahin, M.; Dehghani, F.; Tahei, T. and Panahi, Z., 2005.** The effects of hydroalcholic extract of Actinidia chinesis sperm count and motility and on the blood levels of estradiol and testosterone in male rats. Archives of Iranian Medicine. Vol. 8, No. 3, pp: 211-216.

۱۸. **Pokharkar, R.D.; Saraswat, R.K. and Kotkar, S., 2010.** Survey of plants having antifertility activity from Western Ghat area of Maharashtra state. Journal of Herbal Medicine and Toxicology. Vol. 4, No. 2, pp: 71-75.

۱۹. **Poorfarid, M.; Karimi Jashni, H. and Houshmand, F., 2013.** The effects of Aloe Vera sap on progesterone, estrogen and gonadotropin in female rats. Journal of Jahrom University of Medical Sciences. Vol. 10, No. 4, pp: 6-10.

۲۰. **Rao, Y.V.; Das, B.K.; Pradhan, J. and Chakrabarti, R., 2006.** Effect of Achyranthes aspera on the immunity and survival of Labeo rohita infected with Aeromonas hydrophila. Fish Shellfish Immunol. Vol. 20, pp: 263-273.

۲۱. **Sivaram, V.; Babu, M.M.; Immanuel, G.; Murugadass, S.; Citarasu, T. and Marian, M.P., 2004.** Growth and immune response of juvenile greasy groupers (Epinephelus tauvina) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against Vibrio harveyi infections. Aquaculture. Vol. 227, pp: 2-9.

۲۲. **Telefo, P.B.; Moundipa, P.F. and Tchouanguep, F.M., 2004.** Inductive effect of the leaf mixture extract of Aloe buettneri, Justicia insularis, Dicliptera verticillata and Hibiscus macranthus on in vitro production of estradiol. J Ethno Pharmacol. Vol. 91, No. 2-3, pp: 225-2230.

۲۳. **Wang, J.Q.; LIU, G.Z.; Tian, Z.X.; Li, W.K. and Yan, Y.L., 2008.** Effects of Chinese herb medicine supplementation on reproduction of yellow catfish Pelteobagrus fulvidraco. Journal of Dalian Fisheries University. Vol. 2, pp: 174-185.

۲۴. **Wu, W.; Ye, J.; Lu, Q.; Wu, H. and Pan, Q., 1998.** Studies on Gynostemma pentaphyllum used as fish feed additives. J Shanghai Fish Univ. Vol. 7, pp: 367-370.

۲۵. **Yan, W., Ohtani, K., Kasai, R. and Yamasaki, K. 1996.** Steradial saponins from fruits of *Tribulus terrestris*.

۲۶. **Zheleva-dimitrova, D.; Obreshkova, D. and Nedialkov, P., 2012.** Antioxidant activity of *tribulus terrestris* a natural Product in infertility therapy. Vol. 4, No. 4, pp: 1488- 1490.