بررسی اثر عصاره ریزپوشانی شده گیاه *فیکوس بنگهالنسیس* (*Ficus benghalensis*) بر فاکتورهای رشد و تولیدمثلی در ماهیان دم شمشیری (*Xiphophorus helleri*)

- **عباسعلی حاجی بگلو***: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵
- **محمد سوداگر**: گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، صندوق پستی: ۴۸۷-۴۹۱۷۵

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۵

چکیده

در این تحقیق اثر عصاره ریزپوشانی شده برگ گیاه فیکوس بنگهالنسیس بر فاکتورهای رشد و تولیدمثلی در ماهی زینتی دم شمشیری مورد مطالعه قرار گرفت. برای این منظور عصاره با استفاده از صمغ عربی و مالتودکسترین ریزپوشانی شد. در این آزمایش ٤ جیره غذایی شامل ۰ (تیمار ۱: شاهد)، ۲۰۰ (تیمار ۲)، ٤۰۰ (تیمار ۳) و ۸۰۰ (تیمار ٤) میلی‌گرم عصاره ریزپوشانی شده بر کیلوگرم جیره تهیه شد و مولدین نر به‌مدت ۱٤ هفته تغذیه شدند. ماهیان ماده نیز با جیره غذایی پایه تغذیه شدند. نتایج نشان داد نسبت تعداد لارو متولد شده به‌ازای هر مولد ماده در هر چهار تیمار آزمایش اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). درصد بقای لارو در تیمار ٤ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵). هم‌چنین در هر چهار تیمار مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری در میانگین وزن لاروها وجود نداشت (P>۰/۰۵). بالاترین درصد شاخص گنادوسوماتیک در تیمار ٤ مشاهده شد (P<۰/۰۵). میزان استرادیول در تیمارهای ۱ و ۲ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمارهای ۳ و ٤ بود (P<۰/۰۵). میزان تستوسترون و پروژسترون نیز در تیمارهای ۳ و ٤ به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیش‌تر از تیمارهای ۱ و ۲ بود. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان پروتئین کل در تیمار ٤ و ۱ مشاهده شد. نتایج نشان داد میانگین تعداد گلبول‌های سفید و قرمز و هم‌چنین هماتوکریت در تیمارهای ۳ و ٤ بیش‌تر از سایر تیمارها بود. با توجه به نتایج حاصله عصاره فیکوس بنگهالنسیس نقش مثبتی بر روی عملکرد تولیدمثلی در ماهیان دم‌شمشیری داشت.

کلمات کلیدی: *فیکوس بنگهالنسیس*، تولیدمثل، ماهی دم شمشیری

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: alihajibeglou@yahoo.com

مقدمه

گیاه *فیکوس بنگهالنسیس* به‌صورت سنتی در بین قبیله‌ها و نقاط مختلف هندوستان در درمان بیماری‌ها و مشکلات جنسی در مردان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Rathee و همکاران، ۲۰۱۰؛ Jain و همکاران، ۲۰۰۴). شیرابه و جوشانده برگ‌های گیاه *فیکوس بنگهالنسیس* دارای خواص تقویت کنندگی قوای جنسی است که در طب سنتی برای تقویت صفات مردانه مورد استفاده قرار می‌گیرد ولی استفاده از آن برای زنان توصیه نمی‌شود زیرا جوشانده برگ این گیاه خواص سقط جنین دارد (Baby و Justin، ۲۰۱۱). گزارش شده است که می‌توان از جنس *فیکوس* برای تقویت فعالیت‌های تولیدمثلی در آبزی‌پروری استفاده نمود (Emeka و همکاران، ۲۰۱۴). عصاره اتانولی گیاه *فیکوس بنگهالنسیس* دارای خواص ضدالتهاب (Manoj و Urmila، ۲۰۰۸)، ضد کرم و انگل (Taur و Patil، ۲۰۰۹)، فعالیت آنتی‌هیستامینی (Mukherjee و Saha، ۱۹۹۸)، ضد اسهال (Gabhe و Tatke، ۲۰۰۶)، تقویت کننده سیستم ایمنی، آنتی‌دیابتی (کاهش دهنده گلوکز خون) (Singh و همکاران، ۲۰۰۹)، آنتی‌اکسیدانی (Sharma و همکار ان، ۲۰۰۷)، ضد قارچ (Suryanarayanan و Vijaykrishna، ۲۰۰۱) و ضد باکتری (Parekh و همکاران، ۲۰۰۵) می‌باشد.

از هزاران سال قبل برای درمان برخی بیماری‌ها و مشکلات تولیدمثلی در انسان از گیاهان دارویی مختلف استفاده می شده است (Westphal و همکاران، ۲۰۰۶). ترکیبات فنولی، روغن‌های فرار، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، تانن‌ها، پلی‌ساکاریدها و پلی‌پپتیدهای موجود در برخی گیاهان دارای خواص گوناگون از قبیل: ضدباکتری، اشتهاآور، ضداسترس، نیروبخش، ضدقارچ و تقویت کننده سیستم ایمنی بدن، تقویت‌کننده یا تضعیف‌کننده فعالیت‌های تولیدمثلی می‌باشند (Vasudeva و Vats، ۲۰۱۱؛ Jain و همکاران، ۲۰۰۴). ترکیبات گیاهی در مقایسه با ترکیبات شیمیایی، سنتتیک و آنتی‌بیوتیک‌ها، اثرات جانبی مضر نداشته (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 محیط زیست دارند (Citarasu و همکاران، ۲۰۰۳). از این‌رو ترکیبات با منشأ طبیعی یا دوست‌دار طبیعت، از قبیل عصاره‌های گیاهی می‌توانند جایگزین مناسبی برای این قبیل مواد باشند. اما عصاره‌های گیاهی تهیه شده معمولاً در برابر عوامل محیطی آسیب‌پذیر بوده و در اثر گذشت زمان در نتیجه واکنش‌های مختلف با نور، اکسیژن و سایر ترکیبات ممکن است مواد موثر خود را تا حد زیادی از دست بدهند بنابراین نیازمند محافظت از آن‌ها در برابر عوامل ناخواسته مذکور می‌باشد. یکی از روش‌های مناسب برای این منظور استفاده از ریزپوشانی عصاره‌ها می‌باشد. روش میکروانکپسوله کردن یا ریزپوشانی، فرایندی است که طی آن مواد یا ترکیبات جامد، مایع یا گاز درون کپسول‌های کوچک پوشانده می‌شوند (Chen و همکاران، ۲۰۱۰؛ Chan و همکاران، ۲۰۰۳).

کاربرد گیاهان و ترکیبات دارویی آن‌ها در علوم و رشته‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است. اثر بسیاری از عصاره‌های گیاهی بر روی رشد، سیستم ایمنی، تولیدمثل و انواع بیماری‌ها به‌ویژه در پستانداران و انسان به‌خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است اما، این قبیل تحقیقات در آبزیان به‌مراتب کم‌تر بوده است. از سوی دیگر با توجه به تنوع رنگ، تنوع الگوی باله‌ها، مقاومت نسبتاً بالا در برابر شرایط نامساعد محیطی، سهولت تکثیر و تولیدمثل و نیز رژیم غذایی همه‌چیز خواری، ماهیان دم‌شمشیری (خانواده Poeciliidae) توانسته‌اند نظر علاقمندان زیادی را به خود جلب کنند و در بسیاری از آزمایشات از آن‌ها به‌عنوان مدل آزمایشگاهی استفاده کنند (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۷؛ Ling و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین در این تحقیق اثر عصاره اتانولی ریزپوشانی شده *فیکوس بنگهالنسیس* (*Ficus benghalensis*) با صمغ عربی و مالتودکسترین روی عملکرد تولیدمثلی و رشد در جنس نر ماهی زینتی دم‌شمشیری (*Xiphophorus helleri*) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه ماهی: ماهیان مورد نیاز برای این آزمایش از کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی واقع در استان گلستان، شهر گرگان، جاده شصت‌کلا خریداری شدند. محل اجرای آزمایش در کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان زینتی واقع در استان گلستان، شهر فاضل‌آباد بود. این ماهی‌ها تقریباً همگی نابالغ و هم‌سن بوده و حدود دو و نیم ماه سن داشتند. این ماهیان به‌مدت یک ماه و نیم در شرایط آزمایشی پرورش یافتند. در این دوره زمانی روزانه به‌میزان ۵ درصد وزن بدن و در دو نوبت غذادهی شدند تا این‌که به سن تقریبی چهار ماهگی رسیدند. با مشاهده اولین علائمی که جنسیت نر و ماده ماهیان قابل تشخیص باشد، اقدام به جداسازی نرها از ماده‌ها شد. در این آزمایش، ۴ گروه ماهیان ماده (هر گروه ۱۲ قطعه ماهی و ۳ تکرار) و ۴ گروه ماهیان نر (هر گروه ۲۴ قطعه ماهی) در آکواریوم هایی با حجم آبی حدود ۴۰ لیتر ذخیره

شدند. به‌علاوه هر آکواریوم با گرفتن انشعابی از سیستم هواده مرکزی هوادهی می‌شدند. ماهیان ماده تا پایان دوره با جیره غذایی شاهد (پایه) تغذیه شدند. اما، ۴ گروه ماهیان نر با جیره‌های حاوی ۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم عصاره ریزپوشانی شده *فیکوس بنگهالنسیس* در هر کیلوگرم جیره پایه تغذیه شدند. هر ۳۰ روز ماهیان نر به مخازن ماهیان ماده معرفی می‌شدند (با نسبت ۱ نر به ۴ ماده). ماهیان نر به‌مدت ۵ روز در مخزن ماهیان ماده قرار داشتند. سپس ماهیان نر هر مخزن جمع‌آوری شده و به مخزن ویژه خود منتقل می‌شدند. این عمل تا پایان دوره آزمایش (۳ ماه) تکرار شد.

عصاره‌گیری به کمک امواج مایکروویو: برگ‌های سبز گیاه *فیکوس بنگهالنسیس* از مرکز تحقیقات کشاورزی گروه زراعت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه شد. برگ‌ها پس از شستشو با آب مقطر، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک و در نهایت آسیاب شدند. پودر به‌دست آمده و حلال (اتانول ۷۰٪) با نسبت ۱:۱۰ در داخل بالن استخراج ریخته شد. بالن در داخل دستگاه مایکروویو (Panasonic, Japan) قرار داده شد. هم‌زمان با هم‌خوردن محتویات بالن به کمک هم‌زن مغناطیسی، اشعه‌دهی مایکروویو با برنامه زمانی به‌صورت: ۸ ثانیه روشن، ۱۵ ثانیه خاموش (۳ مرتبه) و بلافاصله ۳ ثانیه روشن، ۱۰ ثانیه خاموش (۵۰ مرتبه) صورت گرفت. پس از اشعه‌دهی و سرد شدن بالن، محتویات بالن با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد. عصاره حاصل تا زمان ادامه آزمایش دور از نور و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

ریزپوشانی به‌روش خشک کردن انجمادی: در این پژوهش مواد هسته‌ای مورد ریزپوشانی عصاره اتانولی *فیکوس بنگهالنسیس* و مواد دیواره‌ای شامل مالتودکسترین (DE =۱۸-۲۰) و صمغ عربی بودند. برای آماده‌سازی مواد دیواره‌ای، ۳۰ گرم مالتودکسترین و ۱۰ گرم صمغ عربی با ۶۰ گرم آب مقطر در دمای ۸۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد مخلوط و سپس به‌مدت یک ساعت توسط هموژنایزر (IKA, T۲۵, Germany) با دور ۷۰۰۰rpm به‌طور کامل هموژن شدند. در ادامه مواد دیواره‌ای به‌منظور هیدراته شدن کامل به‌مدت یک شب درون بن‌ماری (Memert. WNB ۱۴, Germany) با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. پس از طی زمان مذکور، عصاره‌های مایکروویوی تغلیط شده در تبخیرکننده چرخشی (IKA®RV ۰۵ basic, Germany)، با نسبت ۱:۳ با مواد دیواره‌ای به‌مدت ۳۰ دقیقه همراه با هم‌زدن مخلوط گردیدند (Khazayi و همکاران، ۲۰۱۴؛ Arabshahi و Urooj، ۲۰۰۷). پس از آماده‌سازی مخلوط مواد دیواره‌ای و عصاره، جهت خشک کردن از خشک‌کن انجمادی (Alpha-۲ LD plus, Germany) به‌مدت ۲۴ ساعت استفاده شد. ماده جامد متخلخل حاصل از فلاسک‌های شیشه‌ای خارج و در هاون چینی خرد شدند. پودر حاصل از الک با مش ۴۰ عبور داده شد و در ظروف شیشه‌ای قهوه‌ای درب‌دار تا زمان انجام آزمون‌های مختلف در فریزر نگه‌داری شد.

تعیین راندمان ریزپوشانی: برای تعیین راندمان ریزپوشانی، ابتدا میزان ترکیبات فنولی سطحی پس از ریزپوشانی تعیین شد. به این منظور، ۱ گرم نمونه به‌طور مستقیم به‌مدت ۳۰ ثانیه با اتانول توسط هم‌زن مغناطیسی استخراج و سپس به‌مدت ۳ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد با دور ۳۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد. بعد از جدا شدن فازها، فاز رویی حاصل جمع‌آوری و صاف گردید و میزان ترکیبات فنولی آن به‌روش فولین سیوکالتو تعیین شد. در ادامه ترکیبات فنولی کل پس از ریزپوشانی اندازه‌گیری شد به این صورت که ۱ گرم پودر وزن و حدود ۱ میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده شد. سپس به‌منظور تخریب غشای ریزکپسول‌ها، نمونه‌ها توسط هاون خرد و ۹ میلی‌لیتر اتانول افزوده شد. به‌مدت ۵ دقیقه عمل استخراج انجام و نمونه‌ها با کاغذ صافی، صاف و میزان ترکیبات فنولی با استفاده از روش فولین سیوکالتو تعیین گردید. در نهایت، راندمان ریزپوشانی براساس فرمول زیر محاسبه شد (Mahdavee Khazaei و همکاران، ۲۰۱۴):

$$EE\% = ((TPC۱ - TPC۲) \div (TPC۱)) \times ۱۰۰$$

EE: راندمان ریزپوشانی، $TPC_۱$: میزان ترکیبات فنولی کل پس از ریزپوشانی، $TPC_۲$: میزان ترکیبات فنولی سطحی پس از ریزپوشانی

جیره غذایی: در این آزمایش یک جیره غذایی پایه به‌عنوان جیره شاهد (پایه) و سه جیره آزمایشی براساس عصاره ریزپوشانی شده گیاه *فیکوس بنگهالنسیس* در نظر گرفته شد (جدول ۱).

اندازه‌گیری پروتئین، چربی، خاکستر و رطوبت: برای اندازه گیری رطوبت، خاکستر، پروتئین و چربی خام جیره، از روش AOAC (۱۹۹۰) استفاده شد.

مراحل انجام آزمایش: در ابتدای آزمایش، طول و وزن اولیه مولدین اندازه‌گیری شد. ماهی‌ها روزانه در دو نوبت به‌میزان تقریبی ۵ درصد وزن بدن غذادهی شدند. سپس در فواصل زمانی منظم، هر ۳۰ روز، ۶ قطعه ماهی نر (نسبت ۱ نر به ۴ ماده) به مدت ۵ روز در هر آکواریوم رها شده و مجدداً به مخزن نگه‌داری ماهیان نر انتقال داده می‌شدند.

جدول ۱: ترکیب جیره های غذایی و ترکیب شیمیایی آن‌ها در ۱۰۰ گرم جیره

	جیره‌های غذایی			
ترکیب جیره	**تیمار ۱ (شاهد)**	**تیمار ۲**	**تیمار ۳**	**تیمار ۴**
پودر ماهی کیلکا	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰
آرد گندم	۱۰	۹/۸	۹/۶	۹/۲
آرد جو	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
آردسویا	۱۴	۱۴	۱۴	۱۴
آرد ذرت	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
روغن ماهی	۵	۵	۵	۵
روغن سویا	۳	۳	۳	۳
روغن کلزا	۳	۳	۳	۳
لیستین	۲	۲	۲	۲
مکمل معدنی	۱	۱	۱	۱
مکمل ویتامینی	۱	۱	۱	۱
دی‌کلسیم فسفات	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵	۰/۷۵
ضد قارچ	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
عصاره ریزپوشانی شده *فیکوس بنگهالنسیس*	۰	۰/۲	۰/۴	۰/۸
ترکیب شیمیایی جیره بر حسب درصد				
پروتئین	۳۴/۹۲	۳۵/۱۲	۳۵/۱۰	۳۴/۹۶
چربی	۱۶/۱۲	۱۶/۲۱	۱۶/۱۴	۱۶/۲۵
خاکستر	۵/۱۷	۵/۱۲	۵/۲۱	۵/۲۳
رطوبت	۸/۱۲	۸/۱۶	۸/۱۱	۸/۲۳
انرژی خام (کالری بر گرم)	۵۴۳۳	۵۴۳۸	۵۴۳۵	۵۴۳۱

هر روز قبل از غذادهی جداسازی و شمارش لاروهای تازه متولد شده انجام شد. هم‌چنین وزن، طول، ناهنجاری و میزان تلفات لاروهای تازه متولد شده به‌صورت روزانه ثبت شد. پارامترهای کیفی آب از قبیل اکسیژن محلول در آب، pH، شوری و دما به‌طور منظم اندازه‌گیری و ثبت شدند، هر روز نیم‌ساعت پس از آخرین نوبت غذادهی مدفوع و غذاهای خورده نشده از کف آکواریوم سیفون شده و تعویض آب نیز به صورت روزانه و به‌میزان دو سوم کل آب هر آکواریوم انجام شد. برای تغذیه لاروها ابتدا از ناپلی آرتمیا و زمانی که لاروها کمی بزرگ‌تر شدند از غذای تجاری بیومار استفاده شد.

نرخ رشد ویژه: برای اندازه‌گیری ضریب رشد ویژه از فرمول زیر استفاده شد (Sardar و همکاران، ۲۰۰۹):

$$SGR\ (\%/day) = [(Ln\ W_f - Ln\ W_i)/t] \times ۱۰۰$$

که در آن W_f وزن نهایی، W_i وزن اولیه (در روز ۱) و t طول دوره آزمایش می‌باشد.

میانگین تعداد کل لارو به‌ازای هر مولد ماده: برای محاسبه میانگین تعداد لارو به‌ازای هر مولد ماده از فرمول زیر استفاده شد:

تعداد لارو متولد شده از هر تیمار در کل دوره آزمایش تقسیم بر تعداد مولدین ماده در آن تیمار

هم‌آوری نسبی: برای محاسبه میزان هم‌آوری نسبی از فرمول زیر استفاده شد (Chong و همکاران، ۲۰۰۴):

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

شاخص گنادوسوماتیک: شاخص گنادوسوماتیک به‌عنوان یکی از شاخص‌های ارزیابی عملکرد تولیدمثلی در جنس نر و ماده طبق رابطه زیر محاسبه شد (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۷):

(وزن مولد/وزن گناد) = شاخص گنادوسوماتیک

درصد لاروهای معیوب: برای محاسبه درصد لاروهای با ناهنجاری‌های اسکلتی و معیوب از فرمول زیر استفاده شد (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۷):

۱۰۰×(تعداد کل لاروهای متولد شده/ تعداد کل لاروهای معیوب)

درصد بقای بچه‌ماهی: درصد بقای بچه‌ماهیان طبق فرمول زیر و در انتهای دوره محاسبه شد (Ghosh و همکاران، ۲۰۰۷):

۱۰۰ × (تعداد کل لاروهای متولد شده / تعداد بچه ماهیان زنده در پایان آزمایش)

اندازه‌گیری فاکتورهای خونی: شمارش تعداد گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، اندازه‌گیری هماتوکریت و غلظت هموگلوبین مطابق روش Barros و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد.

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی: غلظت پروتئین کل سرم خون، طبق روش Lowry و همکاران (۱۹۵۲) و میزان آلبومین مطابق دستورالعمل Wotton و Freeman (۱۹۸۲) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت گلوبولین، مقدار آلبومین از مقدار پروتئین کل کم شد. غلظت گلوکز سرم خون با استفاده از کیت تجاری استاندارد به‌روش فتومتری و با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. برای سنجش هورمون‌های جنسی مطابق Lacy-Halbert و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری: این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. داده‌های به‌دست آمده به کمک آنالیز واریانس یک‌طرفه (One Way Anova) و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. هم‌چنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

میزان ترکیبات فنولی کل و سطحی در عصاره حاصل از خشک‌کن انجمادی پس از ریزپوشانی و راندمان ریزپوشانی در جدول ۲ آمده است. راندمان ریزپوشانی ۷۶/۹۴ میلی گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره بود. مطابق جدول ۳، میانگین نسبت تعداد لارو متولد شده به ازای هر مولد ماده در هر چهار تیمار آزمایش اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵).

جدول ۲: راندمان ریزپوشانی عصاره‌ها

میزان ترکیبات فنولی کل پس از ریزپوشانی (میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره)	میزان ترکیبات فنولی سطحی پس از ریزپوشانی (میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم عصاره)	راندمان ریزپوشانی (درصد)
۸۹/۷۵±۰/۲۴	۲۰/۶۹±۰/۱۷	۷۶/۹۴

میانگین درصد بقای لاروهای متولد شده در تیمار ۴ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵) اما، بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری (P>۰/۰۵) از نظر درصد بقای لاروی مشاهده نشد. نتایج نشان داد که میانگین درصد لاروهای معیوب در تمامی تیمارهای آزمایشی تقریباً با هم برابر بوده و اختلاف معنی‌داری (P>۰/۰۵) با یکدیگر نداشتند. طول لاروهای متولد شده در تمامی تیمارها تقریباً با هم برابر بوده و تفاوت معنی‌داری (P>۰/۰۵) نداشتند. به‌طور مشابه نتایج میانگین وزن لاروهای متولد شده نشان می‌دهد که در هر چهار تیمار مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری در میانگین وزن لاروها وجود ندارد (P>۰/۰۵). شاخص گنادوسوماتیک در تیمارهای ۱، ۲، ۳ و ۴ به‌تریب برابر با ۳/۳۲، ۳/۶۶، ۳/۷۱ و ۴/۷۷ اندازه‌گیری شد.

در جدول ۴ نتایج مربوط به مقایسه میانگین‌های فاکتورهای خون‌شناسی در ماهیان دم‌شمشیری نر تغذیه شده با جیره‌های حاوی عصاره آورده شده است. میانگین تعداد گلبول‌های سفید در تیمار ۴ بیش‌ترین و در تیمار ۱ کم‌ترین مقدار بود (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان گلبول‌های قرمز در تیمار ۴ دیده شد (P<۰/۰۵). بین تیمارهای ۱، ۲ و ۳ نیز اختلاف معنی‌داری از نظر میزان گلبول قرمز دیده نشد. نتایج آزمایش هم‌چنین نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین میزان غلظت هموگلوبین به‌ترتیب در تیمارهای ۴ و ۱ می‌باشد. هم‌چنین بین تیمارهای ۲ و۳ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). میزان هماتوکریت در تیمارهای ۱ و ۲ به‌طور معنی‌داری کم‌تر از تیمارهای ۳ و ۴ بود (P<۰/۰۵).

جدول ۳: نتایج مقایسه میانگین‌های عملکرد تولیدمثلی

فاکتور	تیمار			
	۱ (شاهد)	۲	۳	۴
مولد/ تعداد کل لارو	۳۸±۴ a	۳۳±۳/۶۰۵ a	۳۶/۶۷ ±۲/۰۸۲ a	۳۴/۳۳۳ ±۱/۵۲۷ a
درصد بقا بچه ماهی	۴۰/۱۴۵±۰/۸۵۶ b	۴۰/۳۷±۵/۸۹۸ b	۴۰/۶۷±۳/۷۲۲ b	۴۹/۵۲۵±۲/۲۶۶ a
درصد لاروهای معیوب	۱/۸۵۸±۱/۶۱۶ a	۱/۹۴۳±۱/۶۹۵ a	۰/۹۵۲±۱/۶۴۹ a	۰/۹۸±۱/۶۹۸ a
طول لارو (میلی‌متر)	۷/۱۵۷±۰/۱۰۹ a	۷/۰۸۳±۰/۱۰۴ a	۷/۱۴±۰/۰۷ a	۷/۱۲۷±۰/۱۴۲ a
وزن لارو (میلی‌گرم)	۵/۱۵۷±۰/۰۶ a	۵/۱۴±۰/۰۶۱ a	۵/۱۰۳±۰/۰۰۶ a	۵/۱۲۷±۰/۰۲۱ a
شاخص گنادوسوماتیک (%)	۳/۳۲۴±۰/۸۴۲ b	۳/۶۶۷±۰/۸۶۷ ab	۳/۷۱۸±۰/۶۰۲ ab	۴/۷۷۱±۰/۴۴۸ a

در هر ردیف، معنی‌دار بودن میانگین‌ها با حروف لاتین متفاوت نشان داده شده است.

جدول ۴: نتایج مقایسه میانگین‌های فاکتورهای خون‌شناسی

فاکتور	تیمار			
	۱ (شاهد)	۲	۳	۴
گلبول سفید ($\times 10^4$ m^3)	۲/۱۲±۰/۰۹۲ b	۲/۳۹±۰/۱۲۸ ab	۲/۳۸±۰/۱۷۶ ab	۲/۵۴±۰/۱۴۵ a
گلبول قرمز ($\times 10^6$ m^3)	۲/۰۱±۰/۱۷۷ b	۱/۹۲±۰/۱۳۷ b	۲/۱±۰/۱۵۱ b	۲/۴۸±۰/۱۳ a
هموگلوبین (گرم بر لیتر)	۷۵/۲±۱/۷۷۸ c	۸۰/۴۸۳±۰/۵۵۶ b	۷۹/۱۴±۱/۰۷ b	۸۳/۵±۰/۷۴۱ a
هماتوکریت (درصد)	۱۸/۱۶±۰/۱۷۸ c	۱۷/۹۱±۰/۴۵ c	۲۰/۸±۰/۵۷۱ a	۱۹/۹۱±۰/۵۲۲ b

در هر ردیف، معنی‌دار بودن میانگین‌ها با حروف لاتین متفاوت نشان داده شده است.

مطابق جدول ۵، میانگین میزان هورمون استرادیول در تیمارهای ۱ و ۲ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمارهای ۳ و ۴ بود (P<۰/۰۵). هم‌چنین نتایج نشان داد که میانگین میزان تستوسترون در تیمارهای ۳ و ۴ به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) بیش‌تر از تیمارهای ۱ و ۲ بود. میانگین میزان پروژسترون در تیمارهای ۳ و ۴ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از تیمارهای ۱ و ۲ بود (P<۰/۰۵). کم‌ترین میزان پروژسترون در تیمار ۱ به‌دست آمد. همان‌طورکه در جدول ۵ مشاهده می‌شود، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آلبومین به‌ترتیب در تیمارهای ۴ و ۱ مشاهده شد. هم‌چنین میزان آلبومین در تیمارهای ۲ و ۳ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت (P>۰/۰۵). میانگین میزان گلوبولین در تیمار ۴ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود (P<۰/۰۵). به‌علاوه میزان گلوبولین در تیمارهای ۱، ۲ و ۳ اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). میزان پروتئین کل در تیمار ۴ به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از سایر تیمارها بود. کم‌ترین میزان پروتئین کل در تیمار شاهد مشاهده شد. هم‌چنین میزان گلوکز سرم در تیمارهای ۳ و ۴ به‌طور معنی‌داری کم‌تر از تیمارهای ۱ و ۲ به‌دست آمد (P<۰/۰۵).

جدول ۵: نتایج مقایسه میانگین‌های فاکتورهای بیوشیمیایی

فاکتور	تیمار			
	۱ (شاهد)	۲	۳	۴
استرادیول (پیکوگرم بر میلی‌لیتر)	۱۰۲۵±۱۴/۱۰۷ a	۱۰۳۱±۹/۸۴۹ a	۸۶۰±۲۲/۹۱۳ b	۸۸۳±۱۹/۵۱۹ b
تستوسترون(نانوگرم بر میلی‌لیتر)	۱۹۲±۱۱/۱۳۵ b	۲۰۵±۱۳/۲۲۹ b	۲۴۰±۱۲ a	۲۴۱±۱۱ a
پروژسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	۰/۹۱±۰/۰۸۹ c	۱/۲۵±۰/۱۴۱ b	۱/۷۱±۰/۱۷۳ a	۱/۶۳±۰/۱۷۴ a
آلبومین (گرم بر لیتر)	۸/۶۵۳±۰/۴۵۵ c	۹/۴۵±۰/۲۲ b	۹/۴۰۳±۰/۲۷۳ b	۱۰/۸±۰/۳۳۱ a
گلوبولین (گرم بر لیتر)	۹/۸۸۷±۰/۲۲۲ b	۱۰/۴۷۳±۰/۲۴ b	۱۰/۵۰۷±۰/۵۶۱ b	۱۱/۵±۰/۴۶۸ a
پروتئین کل (گرم بر لیتر)	۱۸/۵۴±۰/۴۹۴ c	۱۹/۹۲۳±۰/۴۵۸ b	۱۹/۹۱±۰/۸۰۶ b	۲۲/۳±۰/۷۲۵ a
گلوکز (میلی‌گرم بر لیتر)	۱۱۷۵±۸/۸۸۹ b	۱۲۰۲±۸/۱۸۵ a	۱۰۴۱±۱۶/۶۴۳ c	۱۱۱۳±۸۰/۳۱۳ c

در هر ردیف، معنی‌دار بودن میانگین‌ها با حروف لاتین متفاوت نشان داده شده است.

بحث

استفاده از ترکیب آب و اتانول برای استخراج، به‌دلیل ایجاد محیطی با قطبیت متوسط که بهترین شرایط برای استخراج ترکیبات فنولی است، باعث تورم بافت گیاهی و افزایش سطح تماس ماتریکس و حلال و در نتیجه بهبود راندمان استخراج می‌شود (Xiao و همکاران، ۲۰۰۸). از سوی دیگر به‌دلیل پایین بودن راندمان استخراج ترکیبات فنولی و زمان‌بر بودن روش‌های سنتی از قبیل روش استخراج غرقابی، استفاده از روش‌های جدیدتر ازجمله استخراج به کمک امواج مایکروویو اهمیت ویژه دارد. بازده بالاتر استخراج ترکیبات فنولی در روش مایکروویو نسبت به روش‌های سنتی در استخراج فلاوونوئیدها (Xiao و همکاران، ۲۰۰۸) و ترکیبات فنولی (Hemwimon و همکاران، ۲۰۰۷) به اثبات رسیده است. همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود در تحقیق حاضر بازده ریزپوشانی عصاره‌ها به کمک امواج مایکروویو و استفاده از روش خشک کردن انجمادی بالا بود. Zubair و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که میزان باقی ماندن ترکیبات فنولی عصاره برگ‌های *Plantago major* در خشک‌کن انجمادی بالاتر از سایر روش‌های خشک کردن که دما بالاتر است، می‌باشد. در ریزپوشانی لیکوپن حاصل از ضایعات گوجه فرنگی به روش

خشک کردن انجمادی راندمان ریزپوشانی ۷۶/۵ درصد گزارش شد (Chiu و همکاران، ۲۰۰۷). راندمان ذکر شده در مطابقت با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد.

گزارش شده است که سطح مناسب پروتئین و چربی برای ماهیان دم‌شمشیری به‌ترتیب ۴۵-۳۰ درصد و کم‌تر از ۲۰ درصد می‌باشد (Adhikari، ۲۰۰۰). در این تحقیق نیز جیره‌های غذایی حدود ۳۵ درصد پروتئین و ۱۵-۱۶ درصد چربی داشت.

در این تحقیق استفاده از عصاره گیاه *فیکوس بنگهالنسیس* تأثیر معنی‌داری بر نسبت تعداد لارو به‌ازای مولد ماده، درصد لارو معیوب، طول و وزن لارو نداشت. به‌نظر می‌رسد از آن‌جایی‌که نتایج این فاکتورها در ارتباط توأم با هر دو جنس نر و ماده هستند، بنابراین نمی‌توان صرفاً براساس ویژگی‌ها، صفات و نوع جیره مصرفی جنس نر به‌تنهایی قضاوت نمود. اما نتایج شاخص گنادوسوماتیک نشان می‌دهد ماهیان نری که از عصاره فیکوس تغذیه شده بودند میزان شاخص گنادوسوماتیک در آن‌ها نسبت به گروه شاهد افزایش یافت. این اختلاف به‌ویژه در تیمار ۳ و ۴ به‌وضوح مشهود بود. مقایسه هم‌زمان وزن بدن و شاخص گنادوسوماتیک نشان می‌دهد علی‌رغم این‌که وزن بدن اختلاف چندانی با یکدیگر ندارد اما در ماهیان نر تغذیه شده با عصاره گیاه، میزان شاخص گنادوسوماتیک افزایش یافت. این مطلب بیان‌گر افزایش وزن گناد (بیضه) در ماهیان دم‌شمشیری نر می‌باشد. درصد بقای لاروی نیز به‌ویژه در تیمار ۴ افزایش یافت. احتمالاً عصاره فیکوس توانسته سبب تولید اسپرم‌های با کیفیت بالاتر شده و از این طریق لاروهای تولید شده درصد بقای بالاتری را نشان دادند. Palaniyappan و همکاران (۲۰۱۳) نیز گزارش کردند که جنس فیکوس، خواص تقویت‌کنندگی فعالیت‌های تولیدمثلی در جنس نر دارد. افزودن عصاره اتانولی گیاه فیکوس به جیره موش‌های آزمایشی نر، سبب افزایش سطح تستوسترون شده در نتیجه سبب افزایش تمایل این موش‌ها به جنس ماده و افزایش دفعات جفت‌گیری و افزایش عملکرد تولیدمثلی آن‌ها در مقایسه با گروه شاهد می‌شود. به‌طور مشابه، Francis و همکاران (۲۰۱۳) نیز نشان دادند که افزودن پودر برگ‌های *Vernonia amygdalina* به جیره غذایی مولدین گربه‌ماهی غول‌پیکر افریقایی (*Heterobranchus bidorsalis*) سبب افزایش اندازه‌ی بیضه و افزایش تحرک اسپرم در جنس نر می‌شود.

گیاه فیکوس حاوی ترکیبات فنولی با خواص آنتی‌اکسیدانی است (Yadav و همکاران، ۲۰۱۱). آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که مانع تشکیل گونه‌های اکسیژن آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (Pasqualotto و همکاران، ۲۰۰۰). در این راستا، Yang و همکاران (۲۰۰۶) بیان داشتند مصرف آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی باعث حفظ سلول‌های اسپرم در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از سلول‌های تخریب شده می‌شوند و در نتیجه باروری را بهبود می‌بخشند. هرچند تولید گونه‌های اکسیژن آزاد موجب آسیب DNA سلول‌ها می‌شوند، اما تولید آن‌ها در اندام‌های مختلف بدن از جمله بیضه، پدیده طبیعی فیزیولوژیک است. غشای پلاسمایی اسپرم‌ها حاوی مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیراشباع است. بنابراین بسیار مستعد آسیب‌های پراکسیداتیو می‌باشد. پراکسیداسیون لیپیدها موجب تخریب ساختار لیپیدها در غشای اسپرم‌ها می‌شود (Varnet و همکاران، ۲۰۰۴). بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان تخریب‌کنندگان گونه‌های اکسیژن آزاد، می‌تواند موجب تقویت عملکرد اسپرم‌ها گردد (Eskenazi و همکاران، ۲۰۰۵؛ Agarwal و همکاران، ۲۰۰۴). در این آزمایش گیاه فیکوس با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسیداتیو باعث افزایش تعداد و کیفیت اسپرم‌ها شده است.

گیاه فیکوس حاوی ترکیبات فلاونوئیدی متعلق به دسته‌ای از مواد طبیعی با ساختمان‌های فنولی هستند که خواص آنتی‌اکسیدانی دارند به‌علاوه فلاونوئیدها از ترکیبات فیتواستروژن‌ها هستند (Panjeshahin و همکاران، ۲۰۰۵). فیتواستروژن‌ها ترکیبات گیاهی هستند که علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدآلرژی، ضدالتهابی و ضدسرطانی، عملاً ساختمانی مشابه هورمون استروژن داشته و می‌توانند بر روی هورمون‌های جنسی مؤثر باشند (Farsam و همکاران، ۲۰۰۰). براساس نتایج مطالعه حاضر، غلظت‌های سرمی تستوسترون در تیمارهای ۳ و ۴، به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها بود که احتمالاً به دلیل حضور ترکیبات فنولی از جمله ترکیبات فلاونوئیدی است که با ممانعت از آنزیم‌های مشارکت‌کننده در متابولیسم تستوسترون از قبیل آروماتاز و ۵-آلفا-ردکتاز باعث افزایش سطح تستوسترون می‌شوند.

مقایسه نتایج مربوط به میزان استرادیول و شاخص گنادوسوماتیک نشان می‌دهد که این دو فاکتور رابطه عکس دارند. به‌طوری‌که کم‌ترین میزان استرادیول و بیش‌ترین درصد شاخص گنادوسوماتیک در تیمارهای ۳ و ۴ مشاهده شد. El-Gharbawy و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند در ماهیان نر کیلکا (*Mugil cephalus*) در مرحله‌ای که گناد هنوز نرسیده است یا ماهی تخم‌ریزی کرده است (میزان GSI پایین است)، میزان استرادیول بالاتر از زمانی است که گناد در مرحله رسیده (میزان GSI بالا) است. آن‌ها بیان داشتند که هورمون استرادیول در تکامل گناد

نقش مهمی دارد و هرچه به رسیدگی نهایی گناد نزدیک‌تر می‌شود از میزان آن کاسته می‌گردد. در آزمایش اخیر نیز نتایج حاکی از آن است که میزان استرادیول در تیمارهای ۳ و ۴ که GSI بالاتر است، کم‌تر از تیمار ۱ و ۲ بود. بنابراین کاهش استرادیول و افزایش GSI نشان می‌دهد عصاره گیاه *فیکوس بنگهالنسیس* توانسته است نقش مثبتی در تکامل و رسیدگی گناد ماهیان نر داشته باشد.

Scott و همکاران (۱۹۸۰) بیان داشتند در مهره‌داران (جنس نر) رشد و تکامل گناد همواره با افزایش سطح تستوسترون و ۱۱-کتوتستوسترون همراه است. Amiri و همکاران (۱۹۹۵) نیز بیان کردند در ماهی خاویاری هیبرید، بستر (Bester)، همگام با پیشرفت مراحل اسپرماتوژنز، سطح تستوسترون نیز افزایش می‌یابد. Guerriero و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش کردند در ماهی چاب (*Leuciscus cephalus* L.) سطح تستوسترون در مرحله‌ی که گناد به رسیدگی کامل (میزان GSI بالا است) رسیده است در بیش‌ترین مقدار خود می‌باشد به‌عبارت دیگر زمانی که ماهیان در مرحله‌ای که گناد هنوز نرسیده است (مراحل اولیه) هستند سطح هورمون تستوسترون پایین می‌باشد (در این مرحله میزان GSI نیز پایین است) هم‌چنین زمانی که بالاترین میزان GSI مشاهده می‌شود، بالاترین میزان تستوسترون نیز دیده می‌شود. به‌طور مشابه، در این پژوهش تیمارهای ۳ و ۴ که میزان GSI بالاتری داشتند، میزان تستوسترون نیز بالاتر بوده است. بالا بودن GSI به این معنی است که گناد رشد و رسیدگی بیش‌تری داشته است. در مجموع می‌توان بیان داشت به‌دلیل بالاتر رفتن میزان تستوسترون و نیز بیش‌تر بودن میزان GSI در تیمارهایی که با جیره‌های حاوی عصاره گیاه *فیکوس بنگهالنسیس* تغذیه شده بودند، عملکرد تولیدمثلی تقویت یافته است.

در ماهی کیلکای نر، در مرحله‌ای که گناد ماهی کاملا رسیده است (میزان GSI بالا است)، میزان هورمون پروژسترون در بالاترین سطح خود است در حالی‌که در ماهیان نابالغ و ماهیانی که گناد نارس دارند میزان هورمون پروژسترون به‌طور معنی‌داری کم‌تر می‌باشد. به‌عبارت دیگر هرچه سطح پروژسترون افزایش می‌یابد، گناد رشد و تکامل بیش‌تری می‌کند. البته باید توجه داشت این افزایش میزان پروژسترون اگرچه به‌صورت تدریجی و ملایم است اما زمانی که به نزدیکی مرحله رسیدگی کامل گناد می‌رسد، شاهد افزایش ناگهانی هورمون مذکور می‌باشد. زمانی که پروژسترون در بالاترین مقدار خود است، در همین زمان میزان GSI نیز در بالاترین سطح مشاهده می‌شود. به‌علاوه در ماهیان نابالغ و نارس میزان GSI و پروژسترون به‌طور معنی‌داری کم‌تر می‌باشد (El Gharbawy و همکاران، ۲۰۰۷). مطابق نتایج فوق، در تحقیق حاضر نیز در تیمارهای ۳ و ۴ که بالاترین میزان GSI مشاهده شد، بالاترین میزان پروژسترون نیز گزارش شد. بنابراین عصاره مذکور توانسته است با تغییر سطح پروژسترون بر میزان GSI و در نتیجه بر عملکرد تولیدمثلی اثرگذار باشد.

همان‌طور که در بخش نتایج ذکر شد، در ماهیان نر تغذیه شده با جیره‌های حاوی عصاره *فیکوس بنگهالنسیس* میزان گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت افزایش یافت. به‌عبارت دیگر عصاره فیکوس سبب افزایش فاکتورهای فوق شده است. گزارش شده است عصاره اتانولی گیاه *فیکوس بنگهالنسیس* دارای خواص ضدالتهاب (Manoj و Urmila، ۲۰۰۸)، تقویت‌کننده سیستم ایمنی و ضدباکتری (Parekh و همکاران، ۲۰۰۵) می‌باشد. از آن‌جایی‌که گلبول‌های سفید در سیستم ایمنی بدن نقش دارند، بنابراین افزایش در تعداد گلبول‌های سفید می‌تواند سبب تقویت سیستم ایمنی بدن ماهی شود. Sahu و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش کردند که تعداد گلبول‌های سفید و قرمز در بچه‌ماهیان لابئو روهیتا (*Labeo rohita*) تغذیه شده با جیره‌های حاوی گیاه مگنیفرا ایندیکا (*Magnifera indica*)، در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. مونوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و به‌طورکلی گلبول‌های سفید، ماکروفاژها (Sakai، ۱۹۹۹؛ Dalmo و همکاران، ۱۹۹۷) و برخی پروتئین‌های موجود در پلاسمای خون از قبیل ایمونوگلوبولین‌ها، ترانسفرین، آگلوتینین‌ها (Agglutinins) و پرسیپتین‌ها (Precipitins) (Magnadottir، ۲۰۰۶) ازجمله مهم‌ترین مؤلفه‌های دخیل در سیستم ایمنی غیراختصاصی می‌باشند. به‌طور مشابه Sahu و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش کردند در ماهیان لابئو روهیتای آلوده شده با باکتری آئروموناس هیدروفیلا، درصد بقا در ماهیانی که با جیره حاوی مگنیفرا ایندیکا تغذیه شده بودند بیش‌تر از گروه شاهد بود. هم‌چنین پس از تغذیه ماهیان تیلاپیا (*Oreochromis niloticus*) با جیره‌های حاوی دو گیاه آستراگالوس ممبراناکوس (*Astragalus membranaceus*) و لونیسرا جاپونیکا (*Lonicera japonica*) و سپس آلوده‌سازی آن‌ها با باکتری آئروموناس هیدروفیلا مشاهده شد که درصد بقا در ماهیان تغذیه شده با این گیاهان به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از گروه شاهد بود (Ardó و همکاران، ۲۰۰۸). Sivaram و همکاران (۲۰۰۴) نیز در آزمایشی که بر روی ماهیان گروپر (*Epinephelus tauvina*) انجام دادند نشان دادند تغذیه این ماهیان با جیره‌های غذایی حاوی عصاره متانولی گیاهان اوسی‌موم سانکتوم و ویتانیا سومنیفرا سبب بهبود و افزایش

پارامترهای ایمنی‌شناسی از قبیل میزان گلبول‌های سفید و نسبت پروتئین‌های سرم خون شد. به‌نظر می‌رسد در تحقیق حاضر، افزودن عصاره *فیکوس بنگهالنسیس* توانسته است سبب تقویت مؤلفه‌های دخیل در سیستم ایمنی غیراختصاصی و افزایش سلامت و در نهایت کاهش درصد تلفات شود.

در این تحقیق مشاهده شد که افزودن عصاره *فیکوس بنگهالنسیس* ریزپوشانی شده به جیره غذایی ماهیان دم‌شمشیری نر، سبب کاهش گلوکز خون شد. سطح گلوکز پلاسما در نتیجه وجود یک عامل استرس‌زا و یا وجود عفونت در یک موجود، افزایش می‌یابد (Citarasu و همکاران، ۲۰۰۶). مشابه با پژوهش حاضر، Sahu و همکاران (۲۰۰۷) در مورد بچه‌ماهیان لابئو روهیتا (*Labeo rohita*) و نیز Citarasu و همکاران (۲۰۰۶) در مورد میگوی ببری سیاه (*Penaeus monodon*)، در نتیجه تغذیه با جیره‌های غذایی حاوی عصاره‌های گیاهی گزارش کردند که جیره‌های غذایی حاوی عصاره‌های گیاهی موجب کاهش میزان گلوکز می‌شوند شده است. استرس هم‌چنین می‌تواند سبب تغییرات و اختلال در ترشحات گنادی شود. استرس معمولاً سبب کاهش سطح هورمون‌های استروئیدی گناد می‌شود. در مجموع کاهش میزان گلوکز می‌تواند به‌دلیل قابلیت عصاره *فیکوس بنگهالنسیس* در کاستن اثرات عوامل استرس‌زا و خواص عفونت‌زدای آن‌ها باشد. بنابراین عصاره مذکور توانسته است با کاستن اثرات استرس به تقویت عملکرد تولیدمثلی کمک کند.

نتایج نشان داد که افزودن عصاره *فیکوس بنگهالنسیس* به جیره غذایی ماهیان دم‌شمشیری نر سبب افزایش میزان آلبومین و پروتئین کل خون می‌شود. مشابه نتایج این تحقیق توسط Rao و همکاران (۲۰۰۶) در نتیجه تغذیه بچه‌ماهیان روهو (*Labeo rohita*) با دانه‌های گیاه آکیرانتس آسپارا (*Achyranthes aspera*) گزارش شده است. Saha و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که مقادیر پروتئین کل سرم، آلبومین و گلوبولین در بچه‌ماهیان روهو تغذیه شده با جیره‌های حاوی گیاه مگنیفرا ایندیکا (*Magnifera indica* kernel)، بالاتر از گروه شاهد بود. از آن‌جایی‌که پروتئین‌های سرم خون شامل انواع گوناگونی از مؤلفه‌های دخیل در سیستم ایمنی غیراختصاصی هستند، بنابراین در این آزمایش افزایش غلظت پروتئین کل سرم، آلبومین و گلوبولین، می‌تواند به‌دلیل بالاتر رفتن سطح پاسخ‌های سیستم ایمنی غیراختصاصی در ماهیان تغذیه شده با عصاره‌های مذکور باشد. به‌عبارت دیگر عصاره‌های فوق توانسته‌اند سیستم ایمنی و سلامت عمومی بدن ماهی را تقویت کنند.

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره *فیکوس بنگهالنسیس* نقش مثبتی بر روی عملکرد تولیدمثلی در ماهیان دم‌شمشیری نر داشت. در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که عصاره اتانولی گیاه *فیکوس بنگهالنسیس* در جنس نر، می‌تواند عامل تغییردهنده پتانسیل تولیدمثلی باشد.

تشکر و قدردانی

در پایان از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌خاطر فراهم کردن امکانات مورد نیاز برای انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. **Adhikari, S., ۲۰۰۰.** The aquarium environment. In: Compendium of Lectures on Ornamental Fish Breeding and Culture (ed. by S.K. Swain and P.K. Aravindakshan). CIFA, Kausalyaganga, Bhubaneswar, India. pp: ۱۳-۱۸.

۲. **Agarwal, A.; Sharma, R.K.; Nallella, K.P.; Thomas, A.J.; Alvarez, J.G. and Sikka, S.C., ۲۰۰۶.** Reactive oxygen species as an independent marker of male factor infertility. Fertil Steril. Vol. ۸۶, pp: ۸۷۸-۸۸۵.

۳. **Amiri, B.M.; Mabayashi, M.; Adachi, S. and Yamauchi, K., ۱۹۹۵.** Relationship between serum steroid levels and in vitro steroidogenesis by gonads of a hybrid Sturgeon, bester, at different developmental stages. Journal of Aquaculture. Vol. ۱۳۵, pp: ۱۲۷-۱۲۹.

۴. **AOAC. ۱۹۹۰.** Official Methods of Analysis of AOAC, Vol. ۱, ۱۵th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA. ۲۴۵ p.

۵. **Arabshahi, S. and Urooj, A., ۲۰۰۷.** Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry. Vol. ۱۰۲, pp: ۱۲۳۳-۱۲۴۰.

۶. **Ardo, L.; Yin, G.; Xu, P.; Varadi, L.; Szigeti, G.; Jeney, Z. and Jeney, G., ۲۰۰۸.** Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. Aquaculture. Vol. ۲۷۵, pp: ۲۹-۳۳.

۷. **Baby, J. and Justin, S., ۲۰۱۱.** Pharmacognostic and phytochemical properties of *Ficus carica* Linn, An overview. International Journal of Pharm Tech Research. Vol. ۳, No. ۱, pp: ۸-۱۲.

۸. **Barros, M.M.; Lim, C. and Klesius, P.H., ۲۰۰۲.** Effect of soybean meal replacement by cottonseed meal and iron supplementation on growth, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. Aquaculture. Vol. ۲۰۷, pp: ۲۶۳- ۲۷۹.

۹. **Chan, E.S.; Yim, Z.H.; Phan, S.H.; Mansa, R.F. and Ravindra, P., ۲۰۱۰.** Encapsulation of herbal aqueous extract through absorption with ca-alginate hydrogel beads. Food and bioproducts processing. Vol. ۸۸, pp: ۱۹۵-۲۰۱.

۱۰. **Chen, X.; Wu, Z.; Yin, J. and Li, L., ۲۰۰۳.** Effects of four species of herbs on immune function of *Carassius auratus* gibelio. J. of Fish Sciences of China. Vol. ۱۰, pp: ۳۶-۴۰.

۱۱. **Chiu, Y.T.; Chiu, C.P.; Chien, J.T.; Ho, G.H.; Yang, J. and Chen, B.H., ۲۰۰۷.** Encapsulation of Lycopene Extract from Tomato Pulp Waste with Gelatin and Poly (gamma glutamic acid) as Carrier. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. ۵۵, No. ۱۳, pp: ۵۱۲۳-۵۱۳۰.

۱۲. **Chong, A.S.C.; Ishak, S.D. and Osman, Z.R., ۲۰۰۴.** Effect of dietary protein level on the reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). Aquaculture. Vol. ۲۳۴, pp: ۳۸۱-۳۹۲.

۱۳. **Citarasu, T.; Venket-Ramalingam, K.; Raja Jeya Sekar, R.; Micheal Babu, M. and Marian, M.P., ۲۰۰۳.** Influence of the antibacterial herbs, *Solanum trilobatum*, Andrographis paniculata and Psoralea corylifolia on the survival, growth and bacterial load of *Penaeus monodon* post larvae. Aquacult Int. Vol. ۱۱, pp: ۵۸۳-۵۹۵.

۱۴. **Citarasu, T.; Sivaram, V.; Immanuel, G.; Rout, N. and Murugan, V., ۲۰۰۶.** Influence of selected Indian

۳۶. **Parekh, J.; Darshana, J. and Sumitra, C., ۲۰۰۵.** Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. Turkish Journal of Biology. Vol. ۲۹, pp: ۲۰۳-۲۱۱.

۳۷. **Pasqualotto, F.F.; Sharma, R.K.; Nelson, D.R.; Thomas, A.J. and Agarwal, A., ۲۰۰۰.** Relationship between oxidative stress, semen characteristics, and clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation. Fertility Sterile. Vol. ۷۳, pp: ٤٥۹-٤٦٤.

۳۸. **Rathee, P.; Rathee, S.; Rathee, D. and Kalia, A.N., ۲۰۱۰.** In Vitro Antioxidant Studies and Total Phenolic Content of *Ficus Religiosa* Fruits Extract. Pharmacologyonline. Vol. ۲, pp: ۷۳۷-۷٤٤.

۳۹. **Rao, Y.V.; Das, B.K.; Pradhan, J. and Chakrabarti, R., ۲۰۰٦.** Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. Fish Shellfish Immunol. Vol. ۲۰, pp: ۲٦۳-۲۷۳.

٤۰. **Sahu, S.; Das, B.K.; Pradhan, J.; Mohapatra, B.C.; Mishra, B.K. and Niranjan Sarangi, N., ۲۰۰۷.** Effect of *Magnifera indica* kernel as a feed additive on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* fingerlings. Fish and Shellfish Immunology. Vol. ۲۳, pp: ۱۰۹-۱۱۸.

٤۱. **Sakai, M., ۱۹۹۹.** Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture. Vol. ۱۷۲, pp: ٦۳-۹۲.

٤۲. **Sardar, P.; Abid, M.; Randhawa, H.S. and Prabhakar, S.K., ۲۰۰۹.** Effect of dietary lysine and methionine supplementation on growth, nutrient utilization, carcass compositions and haemato-biochemical status in Indian Major Carp, Rohu (*Labeo rohita* H.) fed soy protein-based diet. Aquaculture Nutrition. Vol. ۱۵, pp: ۳۳۹-۳٤٦.

٤۳. **Secombes, C.J. and Fletcher, T.C., ۱۹۹۲.** The role of phagocytes in the protective mechanisms of fish. Annual Review of Fish Diseases. Vol. ۲, pp: ۵۸-۷۱.

٤٤. **Scott, A.P.; Bye, V.J.; Baynes, S.M. and Springate, J.R.C., ۱۹۸۰.** Seasonal variations in plasma concentrations of ۱۱- ketotestosterone and testosterone in male rainbow trout *Salmo gairdneri* Richard. Journal of Fish Biology. Vol. ۱۷, pp: ٤۹۵-۵۰۵.

٤۵. **Sharma, S.; Chaturvedi, E. and Shukla, S., ۲۰۰۷.** Evaluation of the phytochemical and antidiabetic activity of *Ficus bengalensis*. International Journal of Diadevctries. Vol. ۲۷, No. ۲, pp: ۵٦-۵۹.

٤٦. **Singh, R.K.; Mehta, S.; Jaiswal, D.; Rai, P.K. and Watal, G., ۲۰۰۹.** Antidiabetic effect of *Ficus bengalensis* aerial roots in experimental animals. J. of Ethnopharmacology. Vol. ۱۲۳, pp: ۱۱۰-۱۱٤.

٤۷. **Sivaram, V.; Babu, M.M.; Immanuel, G.; Murugadass, S.; Citarasu, T. and Marian, M.P., ۲۰۰٤.** Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. Aquaculture. Vol. ۲۳۷, pp: ۲-۹.

٤۸. **Suryanarayanan, T.S. and Vijaykrishna, D., ۲۰۰۱.** Fungal endophytes of aerial roots of *Ficus benghalensis*. Fungal Diversity. pp: ۱۵۵-۱٦۰.

٤۹. **Taur, D.J. and Patil, R.Y., ۲۰۰۹.** Effect of bio-fraction isolated from *Ficus bengalensis* bark on clonidine induced catalepsy. Journal of pharmacy research. Vol. ۲, No. ۱۱, pp: ۱٦۷٦-۱٦۷۷.

۵۰. **Varnet, P.; Aitken, R.J. and Drevet, J.R., ۲۰۰٤.** Antioxidant strategies in the epidydimis. Molecol Cell Endocrinology. Vol. ۲۱٦, pp: ۳۱-۳۹.

۵۱. **Vasudeva, V. and Vats, M., ۲۰۱۱.** Anti spermatogenic activity of ethanol extract of *Dalbergia sissoo* stem bark. Journal of Acupuncture Meridian Study. Vol. ٤, No. ۲, pp: ۱۱٦-۱۲۲.

۵۲. **Westphal, L.M.; Polan, M.L. and Trant, A.S., ۲۰۰٦.** Double-blind, placebo-controlled study of FertilityBlend®: a nutritional supplement for improving fertility in women. Clinical and experimental obstetrics and gynecology. Vol. ٤, pp: ۲۰۵-۲۰۸.

۵۳. **Wotton, I.D., and Freeman, H., ۱۹۸۲.** Microanalysis in Medical Biochemistry. Churchill, New York, USA.

۵٤. **Xiao, W.H.; Han, L.J. and Shi, B., ۲۰۰۸.** Microwave assisted extraction of flavonoids from *Radix Astragali*. Separation and Purification Technol. Vol. ٦۲, pp: ٦۱٤-٦۱۸.

۵۵. **Yadav, Y.C.; Srivastava, D.N.; Saini, V.; Singhal, S.; Seth, A.K. and Kumar, S., ۲۰۱۱.** In-Vitro antioxidant activity of methanolic extraction of *Ficus Benghalensis* L. latex. Pharmacologyonline. Vol. ۱, pp: ۱٤۰-۱٤۸.

۵٦. **Yang, H.S.; Han, D.K.; Kim, J.R. and Sim, J.C. ۲۰۰٦.** Effect of alpha tocopherol on cadmium induced toxicity in rat testis and carcinogenesis. Korean Medecin Science Journal. Vol. ۲۱, No. ۳, pp: ٤٤۵-٤۵۱.

۵۷. **Zubair, M.; Nybom, H.; Lindholm, C. and Rumpunen, K., ۲۰۱۱.** Major Polyphenols in aerial organs of greater plantain (*Plantago major* L.), and effects of drying temperature on polyphenol contents in the leaves. Scientist Horticulture. Vol. ۲۲۸, No. ٤, pp: ۵۲۳-۵۲۹.

immunostimulant herbs against white spot syndrome virus (WSSV) infection in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* with reference to haematological, biochemical and immunological changes. Fish and Shellfish Immunology. Vol. ۲۱, pp: ۳۷۲-۳۸٤.

۱۵. **Dalmo, R.A.; Ingebrigtsen, K. and Bogwald, J., ۱۹۹۷.** Non-specific defense mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). Journal of Fish Disease. Vol. ٤: pp: ۲٤۱-۲۷۳.

۱٦. **El Gharbawy, M.M.; Fahamy, A.F. and Assem, S.S., ۲۰۰۷.** Steroid hormone in serum of male *Mugil cephalus* from Lake Quaron in relation to ultrastructure of steroide of steroidogenic secreting tissue. Egyptian Journal of Aquatic Research. Vol. ۳۳, No. ۳, pp: ۱۵٦-۱۷۸.

۱۷. **Emeka, U.; Iloegbunam, N.G.; Gbekele-Oluwa, A.R. and Bola, M., ۲۰۱٤.** Natural products and aquaculture development. Journal of Pharmacy and Biological Sciences. Vol. ۹, No. ۲, pp: ۷۰-۸۲.

۱۸. **Eskenazi, B.; Kidd, S.A.; Marks, A.R.; Sloter, E.; Block, G. and Wyrobek, A.J., ۲۰۰۵.** Antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men. Hum Reprod. Vol. ۲۰, pp: ۱۰۰٦-۱۰۱۲.

۱۹. **Farsam, H.; Amanlou, M.; Dehpour, A.R. and Jahaniani, F., ۲۰۰۰.** Antiinflammatory and analgesic activity of biebersleinia multifidia DS, Rootextracy. Journal of Ethnopharm. Vol. ۷۱, No. ۳, pp: ٤٤۳-٤٤۷.

۲۰. **Francis, O.M.; Akinlolu, A.A. and Kehinde, O.A., ۲۰۱۳.** Assessment of bitter leaf (*Vernonia amygdalina*) as fertility enhancer in the giant African Catfish (*Heterobranchus bidorsalis*) broodstock. Academia J of Biotechnology. Vol. ۱, No. ۲, pp: ۳٦-٤۰.

۲۱. **Gabhe, S.Y. and Tatke, P.A., ۲۰۰٦.** Evaluation of the immunomodulatory activity of methanol extract of *Ficus bengalensis* roots in rats. I.J. of Pharmacology. Vol. ۳۸, No. ٤, pp: ۲۷۱-۲۷۵.

۲۲. **Ghosh, S.; Sinha, A. and Sahu, C., ۲۰۰۷.** Effect of probiotic on reproductive performance in female live bearing ornamental fish. Aquaculture Research. Vol. ۳۸, pp: ۵۱۸-۵۲٦.

۲۳. **Guerriero, G.; Ferro, R. and Ciarcia, G., ۲۰۰۵.** Correlations between Plasma Levels of Sex Steroids and Spermatogenesis during the Sexual Cycle of the Chub, *Leuciscus cephalus* L. (Pisces: Cyprinidae) Zoological Studies. Vol. ٤٤, No. ۲, pp: ۲۲۸-۲۳۳.

۲٤. **Hemwimon, S.; Pavasant, P. and Shotipruk, A., ۲۰۰۷.** Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. Separation and Purification Technology. Vol. ۵٤, pp: ٤٤-۵۰.

۲۵. **Jain, A.; Katewa, S.S.; Chaudhary, B.L. and Galav, P., ۲۰۰٤.** Folk herbal medicine used in birth control and sexual diseases by tribals of southern Rajasthan, India. Journal of Ethnopharmacology. Vol. ۹۰, pp: ۱۷۱-۱۷۷.

۲٦. **Khazayi, M.; Dastran, A.; Kazemi, M.; Falah, S. and Adeli, B., ۲۰۱٤.** Assessment corrective methods for estimating suspended sediment (Case Study: Beshaar Watershed). E.E.R. .Vol. ٤, No. ۳, pp: ٤۷-۵۷.

۲۷. **Lacy Halbert, A.; Metcalfe, J.C. and Hesketh, R., ۱۹۹۸.** Biological responses to electromagnetic fields. FASEB Journal. Vol. ۱۲, No. ٦, pp: ۳۹۵-٤۲۰.

۲۸. **Ling, S.; Hashim, R.; Kolkovski, S. and Shu Chien, A.C., ۲۰۰٦.** Effect of varying dietary lipid and protein levels on growth and reproductive performance of female swordtails *Xiphophorus helleri* (Poeciliidae). Aquaculture Research. Vol. ۳۷, pp: ۱۲٦۷-۱۲۷۵.

۲۹. **Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L. and Randall, R.J., ۱۹۵۲.** Protein measurement with Folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, pp: ۱۹۳-۲۵٦.

۳۰. **Magnadottir, B., ۲۰۰٦.** Innate immunity of fish. Fish and Shellfish Immunology. Vol. ۲۰, pp: ۱۳۷-۱۵۱.

۳۱. **Mahdavee Khazaei, K.; Jafari, S.M.; Ghorbani, M. and Hemmati-Kakhki, A., ۲۰۱٤.** Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color. Carbohydrate Polymers. Vol. ۱۰۵, pp: ۵۷-٦۲.

۳۲. **Manoj, A. and Urmila, A., ۲۰۰۸.** Anhelmintic activity of *Ficus bengalensis*. Green Pharmacy. pp: ۱۷۰-۱۷۲.

۳۳. **Mukherjee, P.K. and Saha, K., ۱۹۹۸.** Screening of anti-diarrhoeal profile of some plant extracts of a specific region of West Bengal, Indian, J. of ethnopharmacology. Vol. ٦۰, pp: ۸۵-۸۹.

۳٤. **Palaniyappan, V.; Bommireddy, E.P.; Gudipudi, H.; Chitturi, R.D. and Yandammala, N., ۲۰۱۳.** In vivo fertility enhancing activity (aphrodisiac) of *Ficus carica* fruit on male wistar rats. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol. ۵, No. ۲, pp: ۵۱٦-۵۱۸.

۳۵. **Panjeshahin, M.; Dehghani, F.; Tahei, T. and Panahi, Z., ۲۰۰۵.** 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. ۸, No. ۳, pp: ۲۱۱-۲۱٦.