

بررسی تاثیر مکمل اسانس رازیانه (*Foeniculum vulgare*) در جیره غذایی بر بلوغ اووسیت‌ها و رسیدگی جنسی ماهی سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*)

- **اعظم ستوده:** گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، صندوق پستی: ۵۷۸
- **سکینه یگانه*:** گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، صندوق پستی: ۵۷۸

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۶

چکیده

در تحقیق حاضر، تاثیر مکمل اسانس رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر بلوغ اووسیت‌ها و رسیدگی جنسی سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، ۲۲۵ ماهی سیکلید گورخری با میانگین وزنی $1/65 \pm 0/02$ گرم در آکواریوم‌های ۸۰ لیتری (۱۵ قطعه ماهی در هر آکواریوم) در تیمارهای با سه تکرار توزیع شدند و به مدت ۴۰ روز با جیره‌های غذایی حاوی اسانس رازیانه در سطوح صفر، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به مقدار روزانه ۳ درصد وزن بدن، تغذیه شدند. نتایج بافت‌شناسی گناد (۳۰ روز پس از تغذیه)، زمان رسیدگی جنسی و مدت زمان سپری‌شده از جفت‌گیری تا تخم‌ریزی نشان داد که اغلب اووسیت‌های گروه‌های شاهد، ۷۵ و ۱۲۵ میلی‌گرم اسانس در مرحله پیش‌هستگی و تعدادی در مرحله زرده‌سازی قرار دارند. در تیمار ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم اسانس، اغلب اووسیت‌ها در مرحله آخر زرده‌سازی مشاهده شدند و در مقایسه با سایر تیمارها از تکامل بلوغ بیش‌تری برخوردار بودند. کم‌ترین زمان لازم برای رسیدگی جنسی در ۱۵۰ میلی‌گرم اسانس مشاهده شد ($78/0 \pm 1/15$ روز) که تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد و سایر تیمارها به‌جز ۱۰۰ میلی‌گرم اسانس، داشت ($P < 0/05$). زمان سپری‌شده از جفت‌گیری تا تخم‌ریزی در گروه شاهد ($17/66 \pm 1/45$ روز) در مقایسه با تمام تیمارهای تغذیه‌شده با اسانس رازیانه به‌طور معنی‌داری طولانی‌تر بود ($P < 0/05$).

کلمات کلیدی: اسانس رازیانه، رسیدگی جنسی، سیکلید گورخری



مقدمه

می‌رسد. تخم‌های این گونه در طی ۷۲ ساعت پس از لقاح هج می‌شوند (عمادی، ۱۳۸۸). با توجه به مطالب عنوان شده و احتمال اثر اسانس رازیانه بر رسیدگی جنسی، در این تحقیق اثر استفاده از اسانس رازیانه در جیره غذایی بر بلوغ اووسیت‌ها و رسیدگی جنسی ماهی سیکلید گورخری مدنظر قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای پرورش مولدین ماده، ۴ جیره غذایی متشکل از غذاهای حاوی اسانس رازیانه در سطوح ۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم غذا و یک جیره شاهد (فاقد اسانس رازیانه) آماده گردید. برای تهیه جیره، از غذای بیومار فرانسه استفاده شد، محتوای پروتئین، چربی، فیبر، رطوبت و خاکستر جیره به ترتیب ۵۸، ۱۵، ۰/۵، ۱۱/۵ و ۱/۶ درصد بود. اسانس رازیانه از شرکت بارچ اسانس کاشان تهیه و با مقادیر مشخص در مقداری روغن مایع آفتابگردان (۱۰ میلی‌گرم در ۱ کیلوگرم غذا) حل شده و به‌صورت اسپری به جیره افزوده شد. هر تیمار شامل سه تکرار و در هر تکرار ۱۵ قطعه ماهی ماده با میانگین وزنی $1/65 \pm 0/02$ گرم در آکواریوم‌های ۸۰ لیتری قرار گرفت. میانگین دمای آب در طول دوره آزمایش $26/22 \pm 2$ درجه سانتی‌گراد بود. تیمارها در طی دوره ۴۰ روزه به‌میزان ۳ درصد وزن بدن و ۴ بار در روز (در ساعات ۸، ۱۰، ۱۴ و ۱۶) تغذیه می‌شدند. تعویض آب هر روز به‌میزان ۲۰ درصد از کف آکواریوم انجام می‌شد. سختی آب مخازن $825/61 \pm 59$ میلی‌گرم در لیتر و $8/64 \pm 0/05$ pH و هوادهی در حد اشباع صورت گرفت. متوسط زمان رسیدگی جنسی ماهی‌ها، با ثبت اولین مشاهده رسیدگی جنسی در ماهی‌های هر تیمار به‌دست آمد (Seifi و همکاران، ۲۰۱۴). در پایان دوره غذاهای، از هر تیمار تعدادی ماهی ماده جهت انجام فرآیند تکثیر به‌طور تصادفی انتخاب شدند. برای تکثیر از مخازن آکواریوم ۲۰ لیتری استفاده شد که ماهیان به نسبت ۳ ماده و یک نر در هر مخزن رهاسازی شدند. برای تحریک تخم‌ریزی ماهیان دمای آب تا 29 ± 1 درجه سانتی‌گراد افزایش داده شد. سپس مدت زمان لازم از جفت‌گیری تا تخم‌ریزی برای هر تیمار به ثبت رسید.

به‌منظور انجام عملیات بافت‌شناسی، در هفته چهارم آزمایش، ۶ قطعه ماهی از هر تیمار تشریح و بافت تخمدان آن‌ها خارج گردید، سپس در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند و پس از انجام مراحل پاساژ بافت، برش‌گیری با دستگاه میکروتوم به ضخامت ۸ میکرومتر و رنگ‌آمیزی به‌روش هماتوکسیلین اتوزین، در زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. تشخیص مرحله رسیدگی تخمدان بر اساس روش ۶ مرحله‌ای و بر مبنای شکل ظاهری، اندازه اووسیت‌ها،

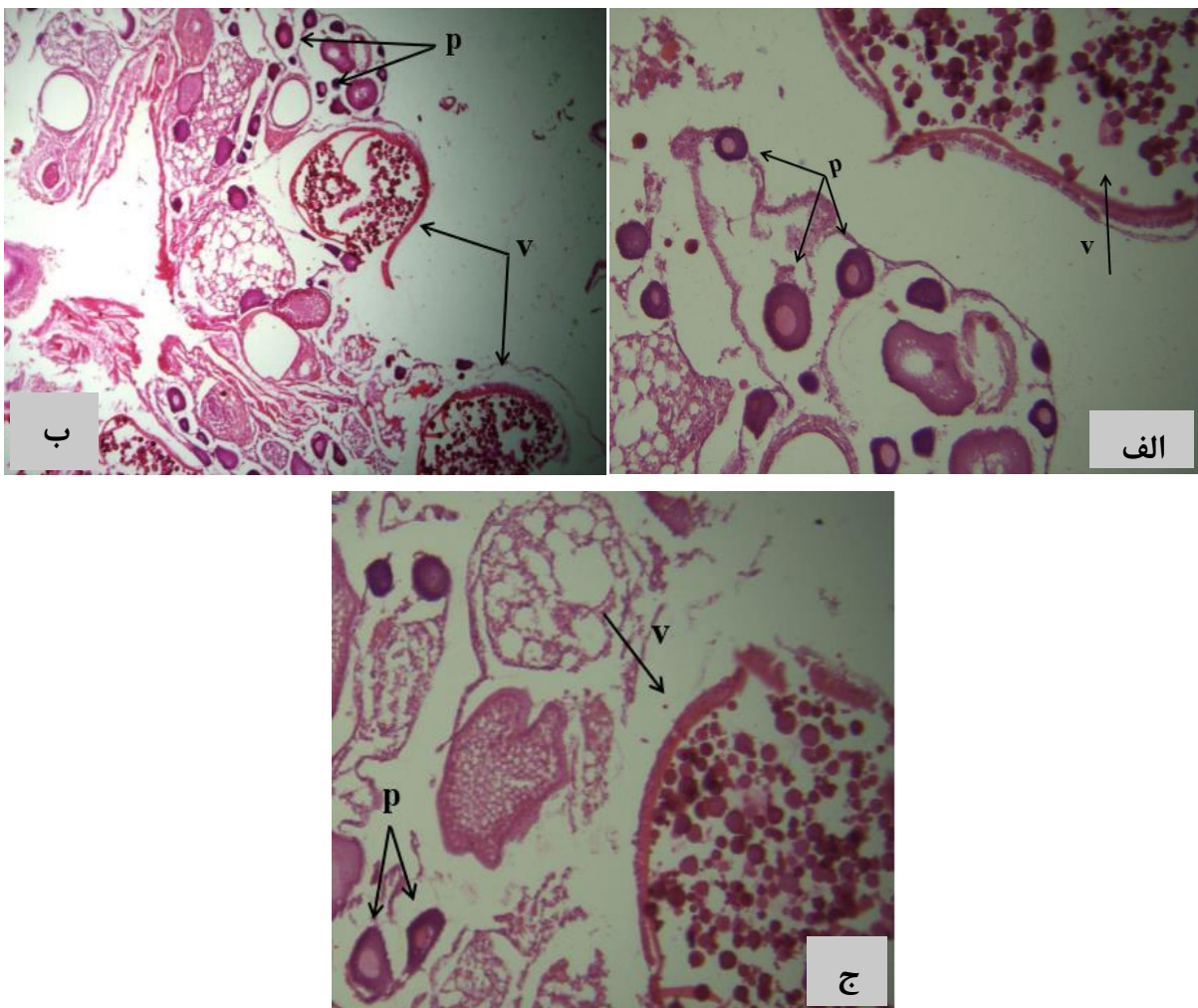
تولیدمثل در ماهی‌ها به‌وسیله فرآیندهای درون‌زا کنترل می‌گردد. این فرآیندهای داخلی از طریق عوامل محیطی از قبیل: نور، دما و عوامل غذایی تحریک می‌شوند. چرخه تولیدمثل اساساً به‌وسیله هورمون کنترل و تنظیم می‌گردد (Zohar و همکاران، ۲۰۱۰). این کنترل اصطلاحاً توسط محور مغز-هیپوفیز-غدد جنسی صورت می‌پذیرد. زنجیروار بودن این فرآیند، مداخله کردن ماده مورد آزمایش را در چند سطح جهت القاء تخمک‌گذاری و پیش‌رس کردن ماهیان، امکان‌پذیر می‌سازد (Wootton و Smith، ۲۰۱۵). جایگزینی طب گیاهی به‌جای هورمون می‌تواند یک رویکرد جدید در آبی‌پروری باشد (Maack و Segner، ۲۰۰۳). در سال‌های اخیر برای کسب اطلاعات راجع به روندهای تولیدمثل، از استروژن‌های آگروژن مانند فیتواستروژن‌ها که با تقلید از اثرات استروئیدهای جنسی آندروژن باعث رشد جنسی گنادها می‌گردند، استفاده می‌شود (Rodriguez و Clotfelter، ۲۰۰۶). فیتواستروژن‌ها، ترکیبات گیاهی هستند که ساختاری مشابه استروژن‌های حیوانی دارند (Turner و همکاران، ۲۰۰۷) و دارای نقش مهمی در صنعت داروسازی و دام می‌باشند و استفاده از آن‌ها در رژیم غذایی آبزیان، می‌تواند اثراتی را بر رشد و تولیدمثل آن‌ها داشته باشد (Dixon، ۲۰۰۴). سه دسته از فیتواستروژن‌ها (ایزوفلاون، کومستان و لیگان) در غلظت‌های بالا در گیاهانی مانند حبوبات (Hwang و Choi، ۲۰۰۴) و رازیانه (Hornok، ۱۹۹۲) یافت می‌شوند.

گیاه رازیانه با نام علمی *Foeniculum vulgare*، از خانواده چتریان (Umbelliferae) با نام انگلیسی Fennel می‌باشد. در اسانس رازیانه بیش از سی نوع ترکیبات ترپنی یا ترپنوئیدی وجود دارد که مهم‌ترین آن‌ها آنتول (Anethol)، فنچون (Fenchone)، لیمونن (Limonene) و متیل کایوکول (Methyl Kavykvl) است (زرگری، ۱۳۷۵). رازیانه دارای مقادیر زیادی ترکیبات شبه‌استروژن و پروژسترون است (تاکی و همکاران، ۱۳۹۳). روزبهرانی و همکاران (۱۳۹۱)، اثر عصاره اتانولی رازیانه را بر باروری ماهی گویی (*Poecilia reticulata*) و ناجی و همکاران (۱۳۹۲)، اثرات فیتواستروژنی عصاره رازیانه را بر رشد و رسیدگی اووسیت‌های ماهی گورامی سه‌خال (*Trichogaster trichopterus*) بررسی کردند. هم‌چنین کرم‌پور و همکاران (۱۳۹۳) تاثیر عصاره هیدروالکلی رازیانه را بر روی سطح سرمی هورمون‌های جنسی در موش‌های نژاد ویستار (Wistar rat) مورد مطالعه قرار دادند. سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) از خانواده سیکلیده (Cichlidae) و بومی دریاچه‌ها و نه‌های آمریکای مرکزی می‌باشد. میانگین طول استاندارد نرها و ماده‌ها به ترتیب ۶/۶-۶/۳ و ۵/۵-۴/۲ سانتی‌متر می‌باشد. این گونه پس از ۱۶ هفتگی به رسیدگی جنسی

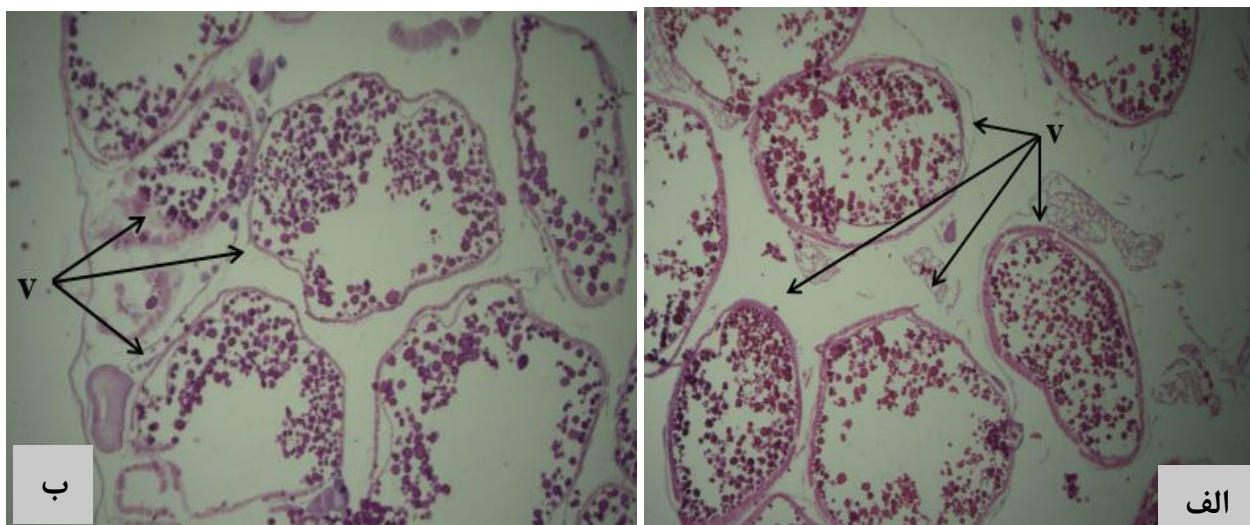
نتایج

بافت‌شناسی: اشکال حاصل از تهیه مقاطع بافتی تخمدان، حاکی از آن بود که اغلب اووسیت‌ها در گروه شاهد، تیمار ۷۵ و ۱۲۵ میلی گرم در کیلوگرم راز یانه در مرحله پیش‌هستگی و نیز تعدادی در مرحله ویتلوژنز (زرده‌سازی) قرار دارند (شکل ۱). در تیمار ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم اسانس، اغلب اووسیت‌ها در مرحله آخر ویتلوژنز مشاهده شدند و نسبت به سایر تیمارها از تکامل بلوغ بیش‌تری برخوردار بودند (شکل ۲).

لایه فولیکولی، دیواره سلولی، واکوتل هسته و هستک‌ها صورت گرفت (Kestemont و Rinchar، ۱۹۹۶). آزمایش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. بررسی نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون Kolmogorov Smirnov و آنالیز داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ صورت گرفت. برای مقایسه میانگین داده‌های حاصل از اجرای تیمارهای آزمایشی از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد.



شکل ۱: مقطعی از بافت تخمدان ماهی‌های گروه شاهد (الف)، تیمار ۷۵ (ب) و ۱۲۵ (ج) میلی گرم اسانس راز یانه، اغلب اووسیت‌ها در مرحله پیش‌هستگی (P (Pronuclear)) و تعدادی در مرحله ویتلوژنز (V (Vitellogenesis); E&H, $\times 400$)



شکل ۲: مقطعی از بافت تخمدان ماهی های گروه شاهد (الف)، تیمار ۷۵ (ب) و ۱۲۵ (ج) میلی گرم اسانس رازیانه، اغلب اووسیتها در مرحله پیش هستگی (P (Pronuclear)) و تعدادی در مرحله ویتلوژنز (V (Vitellogenesis); $\times 400$; E&H)

همچنین اسانس رازیانه سبب کوتاه شدن زمان لازم از جفت گیری تا تخم ریزی در ماهی سیکلید گورخری شد. به طوری که بیشترین فاصله زمانی (از زمان معرفی ماهی ها به مخازن تکثیر) تا تخم ریزی، مربوط به گروه شاهد ($17/66 \pm 1/45$ روز) و کمترین آن مربوط به ماهی های تغذیه شده با ۱۲۵ میلی گرم اسانس رازیانه در کیلوگرم جیره بود ($8/00 \pm 0/57$ روز، $p < 0/05$). سایر تیمارهای تغذیه شده با اسانس رازیانه نیز فاصله جفت گیری تا تخم ریزی کوتاه تری نسبت به گروه شاهد داشتند ($p < 0/05$)، اگرچه زمان لازم تا تخم ریزی بین تیمارهای مختلف تغذیه شده با سطوح مختلف اسانس با هم تفاوت نشان دادند، اما این تفاوت معنی دار نبود ($p > 0/05$) (جدول ۱).

متوسط زمان رسیدگی جنسی و میانگین زمان لازم از جفت گیری تا تخم ریزی: طبق نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، افزودن اسانس رازیانه به جیره ماهی سیکلید گورخری، متوسط زمان رسیدگی جنسی را در این ماهی کوتاه تر کرد. کمترین زمان لازم برای رسیدگی جنسی در تیمار ۱۵۰ میلی گرم اسانس مشاهده شد ($78/00 \pm 1/15$ روز) که نسبت به گروه شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی به غیر از تیمار ۱۰۰ میلی گرم اسانس، تفاوت معنی داری داشت ($p < 0/05$). تیمار ۷۵ و ۱۲۵ میلی گرم اسانس از نظر متوسط زمان رسیدگی جنسی با گروه شاهد اختلاف معنی داری نداشتند ($p > 0/05$) (جدول ۱).

جدول ۱: میانگین شاخص های تولید مثلی ماهی سیکلید گورخری تغذیه شده با مقادیر مختلف اسانس رازیانه طی ۴۰ روز غذایی

شاخص	صفر	رازیانه (۷۵ میلی گرم در کیلوگرم)	رازیانه (۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم)	رازیانه (۱۲۵ میلی گرم در کیلوگرم)	رازیانه (۱۵۰ میلی گرم در کیلوگرم)
متوسط زمان رسیدگی جنسی (روز)	$89/00 \pm 0/57$	$84/33 \pm 2/33$	$81/00 \pm 2/08$	$87/66 \pm 1/45$	$78/00 \pm 1/15$
زمان لازم از جفت گیری تا تخم ریزی (روز)	$17/66 \pm 1/45$	9 ± 2	$8/33 \pm 1/45$	$8/00 \pm 0/57$	$8/33 \pm 0/88$

بحث

اطلاعات اولیه در رابطه با استفاده از استروژن های آگروژن مثل فیتواستروژن ها می باشد (حسین زاده، ۱۳۸۰). ترکیبات آنتی اکسیدانی قوی از جمله فلاونوئیدها و رنگدانه های موجود در گیاهان می توانند تولید هورمون استروژن، که هورمون کلیدی در تولید و بلوغ تخمک در تخمدان است، را افزایش دهند (Francis و همکاران، ۲۰۱۳). در

امروزه استفاده از هورمون ها در جهت تکثیر و پرورش آبزیان به کار گرفته شده است. بنابراین کسب دانش در خصوص نوسانات طبیعی هورمون های موثر در روند تولید مثلی، زمینه فراهم آوردن



تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و هم‌چنین جناب آقای دکتر نورانی که در به ثمر رساندن نتایج این مطالعه یاری نمودند، قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. تاکلی، ا.؛ سالاری، س.؛ بوجاریپور، م.؛ ساری، م. و تقی‌زاده، م.، ۱۳۹۳. تاثیر سطوح مختلف اسانس رازیانه بر صفات تولیدی، خواص کیفی تخم‌مرغ و برخی فراسنجه‌های تولیدمثلی مرغ تخم‌گذار. نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران. جلد ۶، شماره ۲، صفحات ۱۴۰ تا ۱۴۹.
۲. چنگیزی، ر.؛ متین‌فر، ع.؛ جمیلی، ش. و غیاثوند، ز.، ۱۳۸۷. مقایسه شاخص‌های تکثیر ماهی زینتی سیکلید گورخری (*Cichlasoma nigrofasciatum*) در نسبت‌های جنسی و دوره‌های نوری متفاوت. مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان. شماره ۷۸، صفحات ۱۳۵ تا ۱۴۳.
۳. حسین‌زاده صحافی، ه.، ۱۳۸۰. بیولوژی تولید مثل ماهی با تاکید بر ماهی‌های ایران. موسسه نشر جهاد وابسته به جهاد دانشگاهی واحد تهران. صفحات ۲ تا ۴.
۴. روزبهبانی، ش.؛ نظری، ع.ر. و باقرزاده، ژ.، ۱۳۹۱. بررسی تاثیر عصاره اتانولی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر رشد و باروری ماهی گیبی (*Poecilia reticulata*). اولین همایش ملی شیلات و آبزیان ایران، دانشگاه علوم و فنون دریائی خرمشهر.
۵. زرگری، ع.، ۱۳۷۵. گیاهان داروئی، تهران. جلد دوم. صفحات ۱۱۴ تا ۱۱۴.
۶. صدرفضایی، س.؛ فرخی، ف. و خاننشی، ف.، ۱۳۹۳. تاثیر متفورمین و عصاره آبی رازیانه بر هیستومورفومتری آندومتر رحم و میزان هورمون‌های استروئیدی در موش‌های مبتلا به سندرم پلی‌کیستیک تخمدان. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم. دوره ۸، شماره ۵، صفحات ۱۲ تا ۱۹.
۷. عمادی، ح.، ۱۳۸۸. آکواریم و تکثیر و پرورش ماهی‌های آکواریمی آب شیرین. انتشارات علمی آبزیان. ۳۶۴ صفحه.
۸. کرم‌پور، پ.؛ آذرنیا، م.؛ میرابوالقاسمی، غ. و علیزاده، ف.، ۱۳۹۳. تأثیر عصاره هیدروالکلی دانه رازیانه بر غلظت سرمی هورمون‌های جنسی در رت‌های ماده نژاد ویستار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک. سال ۱۷، شماره ۵، صفحات ۷۱ تا ۷۸.
۹. ناجی، ط.؛ حسین‌زاده، ه.؛ جاذبی‌زاده، م.ک. و ثمری، ز.، ۱۳۸۹. بررسی اثر ایزوفلاون‌های روغن سویا بر رشد و رسیدگی

پژوهشی که توسط ناجی و همکاران (۱۳۹۲) بر روی ماهی ماده گورامی سه‌خال (*Trichogaster trichopterus*) صورت گرفت، تزریق عصاره رازیانه در مقادیر ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن سبب رشد و رسیدگی اووسیت‌ها شد، که این تاثیر در مقدار ۵۰ میلی‌گرم بارزتر بود.

در تحقیق khazaei و همکاران (۲۰۱۱)، تزریق عصاره رازیانه در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن به مدت ۵ روز، سبب افزایش معنی‌دار تعداد فولیکول‌های تخمدانی در موش‌های ماده شد. صدر فضایی و همکاران (۱۳۹۳)، در بررسی تاثیر عصاره آبی رازیانه بر موش‌های مبتلا به سندرم پلی‌کیستیک تخمدان، چنین بیان کردند که عصاره رازیانه به دلیل داشتن خواص فیتواستروژنی، با تعادل رساندن هورمون‌های استروئیدی، اثر ترمیمی خود را بر بافت رحم اعمال می‌کند.

نظری و همکاران (۲۰۱۵)، بیان کردند که افزودن عصاره رازیانه به جیره ماهی گویی سبب تسریع در رسیدگی تخمدان ماهی‌ها شده و در نتیجه زمان تولد لاروها در تیمارهای مورد آزمایش نسبت به گروه شاهد کوتاه‌تر شده است ($p < 0.05$)، که این نتایج با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد. هم‌چنین نتایج آن‌ها نشان داد که تعداد کل تخم‌های رها شده و تعداد لاروها در تیمارهای تغذیه‌شده با جیره حاوی اسانس رازیانه بیش‌تر از گروه شاهد بود.

جیره غذایی مولدین به‌طور مستقیم بر تعداد تخم و اندازه آن‌ها اثرگذار است (مهردوی و همکاران، ۱۳۹۲). در تحقیق صورت گرفته توسط Sotoudeh و همکاران (۲۰۱۶)، اسانس رازیانه در سطوح ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره سبب افزایش درصد لقاح و درصد تخم‌گشایی در ماهی‌های سیکلید گورخری شد ($p < 0.05$) (Belew ۱۹۹۹). چنین بیان کرد که گیاه رازیانه سبب ایجاد بلوغ در اووسیت‌ها می‌شود. پژوهش‌های پیشین دلیل افزایش عملکرد تولیدمثلی در ماهی‌ها را به وجود استروئیدهای گیاهی موجود در برگ‌های گیاهان نسبت داده‌اند که سبب می‌شود تا مقدار پریش‌تری استروژن و آندروژن برای گندهای ماهی تامین گردد (Francis و همکاران، ۲۰۱۳).

باتوجه به مطالب عنوان‌شده، کوتاه‌شدن زمان تخم‌ریزی ماهی‌های تغذیه‌شده با اسانس رازیانه در تحقیق حاضر نیز می‌تواند به دلیل تاثیر استروژن‌های رازیانه بر تسریع رسیدگی تخمدان در ماهی‌های مورد آزمایش باشد. به‌همین دلیل می‌توان از اسانس رازیانه جهت کوتاه شدن زمان تخم‌ریزی و مزایای اقتصادی برای تکثیر و پرورش ماهی سیکلید گورخری استفاده کرد.



۲۵. Zohar, Y.; Muñoz Cueto, J.A.; Elizur, A. and Kah, O., 2010. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. General and comparative endocrinology. Vol. 165, No. 3, pp: 438-455.
- اووسیتها در ماهی گورامی سه‌خال ماده نابالغ (*Trichogaster trichopterus*). فصلنامه پژوهش‌های مجله علوم و فنون دریایی. سال ۵، شماره ۳، صفحات ۶۶ تا ۷۳.
۱۰. ناجی، ط.؛ حسین‌زاده، ه.؛ سمائی، ت. و امانی‌نژاد، پ.، ۱۳۹۲. بررسی اثر عصاره گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر رشد و رسیدگی اووسیتها در ماهی ماده گورامی سه‌خال (*Trichogaster trichopterus*). مجله آبیان و شیلات. سال ۴، شماره ۱۴، صفحات ۵۲ تا ۵۸.
۱۱. **Belew, C., 1999.** Herbs and the childbearing woman. Journal of Nurse Midwifery. Vol. 44, No. 3, pp: 231-252.
۱۲. **Choi, E.M. and Hwang, J.K., 2004.** Antiinflammatory analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*. Fitoterapia. Vol. 75, No. 6, pp: 557-565.
۱۳. **Clotfelter, E.D. and Rodriguez, A.C., 2006.** Behavioral changes in fish exposed to phytoestrogens. Environmental Pollution. Vol. 144, No. 3, pp: 833-839.
۱۴. **Dixon, R.A., 2004.** Phytoestrogens. Annu. Rev. Plant Biology. Vol. 55, pp: 225-261.
۱۵. **Francis, O.M.; Akinlolu, A.A. and Kehinde, O.A., 2013.** Assessment of bitter leaf (*Vernonia amygdalina*) as fertility enhancer in the giant African catfish (*Heterobranchus bidorsalis*) broodstock. Academia Journal of Biotechnology. Vol. 1, No. 2, pp: 36-40.
۱۶. **Hornok, L., 1992.** The Cultivation of Medicinal Plants. In Hornok L. (ed.). Cultivation and Processing of Medicinal Plants. John Wiley and Sons, Chichester. pp: 187-196.
۱۷. **Khazaei, M.; Montaseri, A.; Khazaei, M.R. and Khanahmadi, M., 2011.** Study of *Foeniculum vulgare* effect on folliculogenesis in female mice. International journal of fertility and sterility. Vol. 5, No. 3, pp: 122-127.
۱۸. **Maack, G. and Segner, H., 2003.** Morphological development of the gonads in zebra fish. Journal of fish biology. Vol. 62, No. 4, pp: 895-906.
۱۹. **Nazari, A. and Roozbehani, S., 2015.** Influence of Fennel *Foeniculum Vulgar* Extract on Fertility, Growth rate and Histology of Gonads on Guppy *Poecilia reticulata*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. special issue. pp: 463-469.
۲۰. **Seifi Berenjestanaki, S.; Esmaili Fereidouni, A.; Ouraji, H. and Jani Khalili, K., 2014.** Influence of dietary lipid sources on growth, reproductive performance and fatty acid compositions of muscle and egg in three-spot gourami (*Trichopodus trichopterus*) (Pallas, 1770). Aquaculture Nutrition. Vol. 20, No. 5, pp: 494-504.
۲۱. **Shafiei, S.S.; Imanpour, M.; Aminian, B. and Gorgin, S., 2010.** Histological study of ovarian development and sexual maturity of Kutum (*Rutilus kutum* Kamenskii, 1901). World Applied Sciences Journal. Vol. 8, No. 11, pp: 1343-1350.
۲۲. **Sotoudeh, A. and Yeganeh, S., 2016.** Effects of supplementary fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oil in diet on growth and reproductive performance of the ornamental fish, Convict cichlid (*Cichlasoma nigrofasciatum*). Aquaculture Research. Vol. 47, No. 12, pp: 1-8.
۲۳. **Turner, J.V.; Agatonovic Kustrin, S. and Glass, B.D., 2007.** Molecular aspects of phytoestrogen selective binding at estrogen receptors. Journal of pharmaceutical sciences. Vol. 96, No. 8, pp: 1879-1885.
۲۴. **Wootton, R.J. and Smith, C., 2015.** Reproductive Biology of Teleost Fishes. Oxford: Wiley Blackwell. 496 p.

