تأثیر عصارهٔ هیدروالکلی گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus-castus* L.) بر شاخص‌های رشد و نرخ بقاء در گورخر ماهی (*Danio rerio*)

طیبه عنایت غلام‌پور، ولی‌ا..جعفری*، محمدرضا ایمان‌پور و حامدکلنگی میاندره

دریافت: ۱۳۹۵/۲/۲۵/ پذیرش: ۱۳۹۵/۶/۱۰/ چاپ: ۱۳۹۵/۱۲/۲۸

گروه شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
*مسئول مکاتبات: v.jafari@gau.ac.ir

چکیده. در مطالعهٔ حاضر، تأثیر عصارهٔ هیدروالکلی گیاه پنج‌انگشت (*Vitex agnus-castus*) به منزلهٔ مکمل غذایی بر شاخص‌های رشد و تغذیه‌ای در لاروهای گورخرماهی (*Danio rerio*) به‌مدت چهار ماه بررسی شد. لاروها از زمان شروع تغذیهٔ فعال تا سن چهارماهگی (میانگین وزن: ۲/۱±۰/۱ گرم، میانگین طول: ۵/۲±۰/۳ سانتی‌متر) با جیرهٔ غذایی حاوی عصارهٔ گیاه تغذیه شدند. ماهیان تغذیه‌شده با جیرهٔ غذایی حاوی عصارهٔ گیاهی در شاخص‌های رشد، تغذیه‌ای و بقاء نسبت به گروه شاهد در وضعیت بهتری قرار داشتند ($p<0.05$). استفاده از عصاره تأثیر معنی‌داری بر میزان بازماندگی بچه‌ماهیان نداشت ($p>0.05$). جیرهٔ حاوی ۱۵ گرم عصاره به‌طور معنی‌داری بهترین ضریب تبدیل غذایی (۰/۰۷۱±۰/۰۵) را ایجاد کرد ($p<0.05$). با افزایش مقدار عصارهٔ جیرهٔ غذایی، ضریب رشد ویژه ماهیان افزایش یافت. بالاترین و پایین‌ترین شاخص افزایش وزن بدن به ترتیب در تیمار T3 (۵۴۱/۵۸۳±۳۳/۲۲) و T0 (۲۵۲/۹۶۲±۱۷/۷۱) بدست آمد ($p<0.05$). بالاترین شاخص وضعیت در تیمار T3 (۴/۴۴۷±۰/۰۱۱) و کمترین مقدار در تیمار T0 (۲/۵۲۵±۰/۰۲۱) مشاهده شد. در مجموع، این تحقیق پیشنهاد می‌کند افزودن ۱۵ گرم عصاره به جیرهٔ غذایی گورخرماهی می‌تواند در بهبود عملکرد رشد و تولید نهایی مؤثر واقع شود و به‌منزلهٔ مکملی مناسب برای جیرهٔ غذایی کپورماهیان در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی. فیتواستروژن، مکمل غذایی، آبزی پروری، ماهی تزئینی

The effects of hydro-alcoholic extract of *Vitex agnus-castus* L. on the growth indices and survival rate in Zebrafish (*Danio rerio*)

Tayebeh Enayat Gholampour, Valiollah Jafari*, Mohamad Reza Imanpour & Hamed Kolangi Miandare

Received 14.05.2016/ Accepted 31.08.2016/ Published 18.03.2017

Department of Fisheries, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
*Correspondent author: v.jafari@gau.ac.ir

Abstract. In the research project performed, the effects of different levels of hydro-alcoholic extract *Vitex agnus-castus* were investigated as nutritional supplement on growth parameters of *Danio rerio* for 4 months. Since the beginning of the feeding phase up to the age of 4 months (average weight: 2.1±0.1g, length: 5.2±0.3 cm), larvae were fed with experimental diets. Fish treated with diets containing plant extracts had higher growth and survival rate than the control group ($p<0.05$). Differences in the level of the extract had no significant effect on the survival rate ($p<0.05$). The results revealed that the diet containing 15 gr of the extract resulted in the best FCR significantly ($p<0.05$). By increasing the extract in the diet during the experiment, SGR increased. The highest and the lowest %BWG were observed in treatments T3 and T0 respectively ($p<0.05$). The highest CF was observed in T3 and the lowest was obtained in T0. All in all, this study proposed that the addition of 15 gr of hydro-alcoholic extract of *Vitex agnus-castus* in the diet of zebrafish could improve the performance of the growth indices and increase the final biomass. In addition, this extract could be considered as a suitable supplement for Cyprinidae diet.

Keywords. phytoestrogen, nutritional supplement, aquaculture, ornamental fish

مقدمه

تغذیه جنبه‌ای مهم در آبزی‌پروری است‌که پرورش‌دهندگان باید توجه خاصی به آن نشان دهند؛ زیرا بخش زیادی از هزینه‌های پرورش را به خود اختصاص می‌دهد. در پرورش آبزیان هزینهٔ غذا به‌طور معمول ۳۰ تا ۶۰ درصد کل هزینه‌های لازم برای دستگاه‌های پرورش ماهی و سخت‌پوستان را تشکیل می‌دهد (Javed *et al.*, 2009). ازاین‌رو غذای کارخانه‌ها باید با توجه به اصول علمی فرمول‌بندی شود و حداکثر بازدهی را از نظر رشد آبزیان داشته باشد. در این بین، برای کارایی بهتر جیرهٔ غذایی از مکمل‌ها و افزودنی‌های غذایی استفاده کرد. مکمل‌های غذایی یا افزودنی‌ها

برای بهبود کارایی رشد، سلامت آبزی، افزایش پایداری پلت، بهبود طعم غذا به‌کار می‌روند و شامل دو دسته مکمل‌های سنتزی (هورمون‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها، رنگدانه‌های صنعتی و مکمل‌های طبیعی (انواع گیاهان و عصاره‌های آن‌ها، جلبک‌ها، باکتری‌ها و مخمرها) هستند. امروزه امکان جایگزینی مواد افزودنی جدید طبیعی به‌جای مواد محرک رشد، آنتی‌بیوتیک‌ها و هورمون‌ها در رژیم غذایی حیوانات تحت بررسی قرار گرفته است. ازجملهٔ این مواد طبیعی گیاهان هستند. عصاره‌های گیاهی حاوی مواد حیاتی (بیواکتیو) نظیر آلکالوئیدها، فلاوونوئیدها، پیگمانت‌ها، فنولیک‌ها، ترپنوئیدها، استروئیدها و چربی‌های ضروری هستند و گزارش شده که فعالیت‌های مختلفی را نظیر ضد استرس، بهبود و افزایش رشد، تحریک اشتها، تحریک دستگاه ایمنی و ویژگی‌های ضدمیکروبی در پرورش ماهیان برعهده دارند (Rempel & Schlenk, 2008). ازجمله مزایای استفاده از گیاهان دارویی می‌توان به ساده‌بودن کاربرد و نداشتن اثر جانبی سوء بر عملکرد حیوانات و نیز باقی‌نماندن بقایای مضر در فراورده‌های تولیدی اشاره کرد (Ghosal & Chakraborty, 2014). اخیراً گیاهان دارویی و روغن‌های ضروری یا عصاره‌های مربوط به آنها به‌منزلهٔ محرک‌های رشد مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Rempel & Schlenk, 2008). برخی مطالعات نشان داده‌اند که عصارهٔ گیاهان مختلف می‌تواند باعث بهبود ضریب تبدیل غذایی، کاهش دورهٔ پرورش برای عرضه به بازار و کاهش هزینه‌های پرورشی شوند (Javed *et al.*, 2009). گیاه پنج‌انگشت (*Vitex agnus-castus*)، که در مطالعهٔ حاضر مورد استفاده قرار گرفته است، گیاهی از خانوادهٔ شاهپسند است (Ibrahim *et al.*, 2009) که در اکثر نقاط ایران یافت می‌شود و از گیاهان باارزش در زمینهٔ دارویی به‌شمار می‌آید (Newall *et al.*, 1996). مطالعات نشان داده‌اند که گیاه پنج‌انگشت دارای استروئیدها، ساپونین‌ها، فلاوونیدها، آلکالوئیدها، اسیدهای چرب غیراشباع، ویتامین‌ها، تانین‌ها، رزین‌ها، نیترات پتاسیم، اسیدآسپارتیک و اسیدگلوتامیک است (Russo & Galletti, 1996; Ghosal & Chakraborty, 2014).

در جهان تقریباً ۱۵۳۹ گونه ماهی زینتی وجود دارد (Chapman *et al.*, 2007). در طول چهار دههٔ گذشته، تجارت جهانی آنها رشد درخور توجهی داشته است (Ghosh *et al.*, 2007). همچنین، تجارت ماهیان زینتی یکی از فعالیت‌های مهم شیلاتی در کشور ما محسوب می‌شود که قابلیت تولید بیش از صد میلیون ماهی درکشور را فراهم آورده است. یکی از ماهیان محبوب پرورش‌دهندگان ماهیان زینتی، ماهی گورخری با نام علمی (*Danio rerio* Hamilton, 1822) است. گورخرماهی از ماهیان زینتی بسیار زیبا در آب شیرین و مناطق گرمسیری است که زیستگاه آن شرق هند، بنگلادش، پاکستان، میانمارو نپال و از خانوادهٔ کپورماهیان است (Saddhe *et al.*, 2013). طول عمر آن حدود ۵ سال است و در دمای ۱۸ تا ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌راحتی زندگی می‌کند و pH لازم برای آن ۶/۶ تا ۷/۲ است (Hill *et al.*, 2011). نوزادان پس‌از ۴ تا ۶ ماه به بلوغ می‌رسند و حداکثر طول آنها ۶ سانتی‌متر است. روی بدن خطوط افقی رنگی دارند و دارای رژیم غذایی همه‌چیزخواری هستند (Quigley & Parich, 2002). این ماهی به‌دلیل هماوری بالا، اندازهٔ کوچک، دورهٔ جنینی شفاف و دورهٔ زندگی کوتاه در مطالعات زیست‌پزشکی کاربرد زیادی دارد (Koerber & Kalishman, 2009; Lawrence, 2007).

درمجموع، می‌توان بیان کرد که کاربرد عصاره‌های گیاهان در بخش‌ها و رشته‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است و تأثیر آنها بر رشد، دستگاه ایمنی، تولید مثل، درمان بیماری‌ها و غیره، به‌ویژه در انسان و دیگر پستانداران مطالعه است، اما در مورد آبزیان چنین تحقیقاتی در ابتدای راه بوده است. همچنین، اکثر مطالعات صورت‌گرفته در خصوص اثر گیاه پنج‌انگشت بر موجوداتی نظیر انسان و موش صورت گرفته است، با توجه به پیامدهای متعدد و مفید این گیاه، تحقیق حاضر به‌دنبال بررسی تأثیر عصارهٔ این گیاه در جیرهٔ غذایی گورخرماهی به‌عنوان ماهی مدل، به‌منزلهٔ نوعی مادهٔ افزودنی با هدف بهبود شاخص‌های رشد و درصد بازماندگی است تا بتوان به‌نوعی به صنعت تجارت ماهیان تزیینی رونق بخشید و نیز تولید کپورماهیان را افزایش داد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در مرکز تحقیقات آبزی‌پروری شهید فضلی برآبادی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. جهت انجام آزمایش، مولدین گورخرماهی از مرکز ماهیان

زینتی استان گلستان تهیه شدند. تغذیهٔ مولدین با غذای بیومار و شیرونومید منجمد صورت گرفت. جنس نر و ماده به‌صورت جداگانه در آکواریوم‌هایی با ابعاد ۷۰×۴۰×۳۰ سانتی‌متر با دمای ۱±۲۴/۵ درجه سانتی‌گراد، pH معادل ۰/۲±۷/۲ قرار گرفتند و پس‌از دوهفته سازگاری با وضعیت فیزیکی و شیمیایی محیط آزمایشی، در آکواریوم‌های ویژهٔ تخم‌ریزی قرار گرفتند (شکل ۱). در این آکواریوم‌ها جهت جلوگیری از خورده‌شدن تخم‌ها توسط مولدین، سبد توری (ابعاد ۴۰×۳۰×۲۵ سانتی‌متر) قرار داده شد و مولدین در این سبد قرار گرفتند. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب در طی دورهٔ آزمایش اندازه‌گیری شد (اکسیژن محلول: ۰/۱±۴/۴ میلی‌گرم در لیتر، پی. اچ: ۰/۲±۷/۲، نیتریت: ۰/۲±۱/۵۳ میلی‌گرم در لیتر، سختی کل: ۸/۱±۲۰۲ میلی‌گرم در لیتر، دما: ۱±۲۴/۵ درجه سانتی‌گراد). پس‌از گذشت ۴۸ ساعت، مولدین از آکواریوم‌های تخم‌ریزی خارج شدند و تخم‌ها پس‌از گذشت ۳۰-۴۸ ساعت هچ (خراشیده) شدند. جهت انجام آزمایش، ماهیان درقالب ۴ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار در نظر گرفته شدند (۱۲ عدد آکواریوم با ابعاد ۴۰×۲۰×۱۵ سانتی‌متر) و در هر آکواریوم ۳۰ عدد لارو به‌طور تصادفی قرار داده شد. تغذیه لاروها پس‌از جذب ۷۵ درصد کیسهٔ زرده با شیرخشک، زردهٔ تخم مرغ و غذای زنده حاوی ناپلی زئوپلانکتون‌های ریز و پس‌از آن تغذیه با غذای بیومار که با دوزهای صفر (گروه شاهد)، ۵ ، ۱۰ و ۱۵ گرم عصاره در هر کیلوگرم غذا غنی شده بودند صورت گرفت. جهت ساخت جیرهٔ غذایی، عصارهٔ گیاه در حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر آب و ۴ گرم ژلاتین که در آن حل شده بود، مخلوط روی جیرهٔ غذایی اسپری شد و سپس درمعرض تا زمان خشک‌شدن جیرهٔ غذایی درمعرض هوای آزاد قرار گرفت (شکل‌های ۲ و ۳) و داخل کیسه‌های پلاستیکی در یخچال با دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. تمام مراحل ساخت غذا در مورد جیرهٔ گروه شاهد نیز انجام شد و فقط عصارهٔ گیاه پنج‌انگشت به غذای گروه شاهد اضافه نشد. جیره‌های غذایی مورد نظر پس‌از آماده‌سازی، برای حصول اطمینان از کیفیت و ترکیب تقریبی به آزمایشگاه منتقل شد و میزان پروتئین با استفاده از روش کجلدال، چربی خام مطابق با روش سوکسله و رطوبت، فیبر، خاکستر و کربوهیدرات نیز به‌روش ارائه‌شده در AOAC (1990) اندازه‌گیری شدند (پروتئین: ۵۲/۴۵ درصد، چربی: ۱۸/۴۴ درصد، خاکستر: ۱۱/۳۵ درصد، رطوبت: ۸/۱۲ درصد، فیبر: ۰/۵ درصد، انرژی: ۴۵۹۸/۵۶ کالری در گرم). در هر کدام از آکواریوم‌ها یک بخاری (۲۰۰ وات) جهت کنترل دمای آب نصب شد. در طول دورهٔ آزمایش خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب به‌صورت روزانه اندازه‌گیری شد و میانگین این شاخص‌ها در جدول شماره ۱ به‌طور خلاصه آمده است. تغذیهٔ ماهیان به‌صورت دستی و روزانه ۳ بار و به میزان ۱۰-۷ درصد وزن بدن در کل دورهٔ پرورش متغیر بود. جهت حفظ کیفیت آب، ۴۰ درصد حجم آب آکواریوم هر ۲ روز یک‌بار تعویض شد. در طی دورهٔ آزمایش شاخص‌های رشد (رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب چاقی (CF)، درصد افزایش وزن (BWG%) و میزان بقای (SR%) ماهیان تحت بررسی قرار گرفت.

جمع‌آوری گیاه و استخراج عصاره

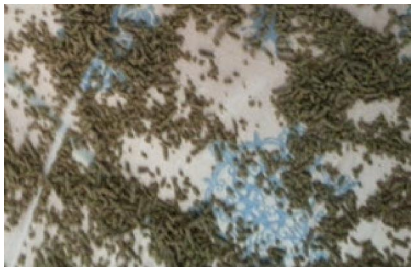
گیاه پنج‌انگشت یا *Vitex agnus-castus* از مرکز تحقیقات گروه زراعت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه شد. برگ‌ها پس‌از شست‌وشو با آب مقطر، بدون استفاده از نور خورشید (در سایه) خشک شدند و از آسیاب برقی جهت پودرکردن برگ‌های گیاه استفاده شد. عصاره‌گیری به‌روش خیساندن انجام شد، به این منظور، مقدار ۱ کیلوگرم از برگ گیاه، پس‌از خردکردن با ۵ لیتر اتانول ۵۰ درصد مخلوط و به‌مدت ۴۸ ساعت خیسانده شد. پس‌از گذشت ۴۸ ساعت، محتویات داخل ظرف، به‌وسیلهٔ کاغذ صافی صاف شده و محلول صاف‌شده به یک بالن منتقل شد. حلال محلول صاف‌شده با قراردادن بالن حجمی در بالای بخاری در دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد خارج شد. سپس، مایع غلیظ‌شدهٔ حاصل روی شیشه‌های ساعت و سینی تشریح پهن شد و در اجاق ۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد تا خشک‌شدن کامل عصاره قرار گرفت. درنهایت عصارهٔ خشک‌شده حاصل، به‌آرامی از روی شیشه‌ها و سینی تشریح جمع‌آوری شد و حدود ۵۰ گرم عصارهٔ خشک از مجموع یک کیلوگرم پودر برگ گیاه پنج انگشت به‌دست آمد (Bahrebar *et al.*, 2014). تحلیل تقریبی گیاه پنج انگشت به روش ارائه شده توسط AOAC (1990) اندازه‌گیری شد (پروتئین: ۲۱/۶۵ درصد، چربی: ۲/۸۰ درصد، خاکستر: ۱۵/۲۰ درصد، رطوبت: ۸/۱۲ درصد، فیبر: ۹/۴۹

شکل ۱– تانک تخم‌ریزی مولدین در تحقیق حاضر.

Fig. 1. Spawning tank in the present research.

شکل ۲– ترکیب عصارهٔ گیاه با شیرخشک جهت تغذیه لاروها.

Fig. 2. The mixture of herbal extract with dried milk to provide food for the larvae.



شکل ۳– اسپری‌کردن عصارهٔ گیاه به غذا و خشک‌کردن آن جهت تغذیهٔ ماهیان.

Fig. 3. Spraying the herbal extract on food and dried to feed fish.

درصد، کربوهیدرات: ۴۲/۷۴ کالری در گرم). ترکیبات موجود در بخش‌های مختلف این گیاه در جدول شماره ۱ آمده است.

شاخص‌های رشد از روابط زیر محاسبه شدند (Luz *et al.*, 2008):

رابطه (۱): رشد ویژه (٪) = {(لگاریتم طبیعی وزن نهایی – لگاریتم طبیعی وزن ابتدایی) / طول دورهٔ پرورش} × ۱۰۰

رابطه (۲): ضریب چاقی = (میانگین وزن / (میانگین طول استاندارد)^3) × ۱۰۰

رابطه (۳): ضریب تبدیل غذایی خورده‌شده = میانگین غذای خورده‌شده / میانگین وزن

رابطه (۴): افزایش وزن بدن = وزن نهایی – وزن اولیه

رابطه (۵): درصد بقاء = تعداد اولیه لاروها / تعداد نهایی لاروها × ۱۰۰

روش تجزیه و تحلیل

شیوهٔ نمونه‌برداری به‌صورت تصادفی و در قالب طرحی کاملاً تصادفی صورت گرفت. تحلیل آماری با ورود داده‌های به‌دست‌آمده (پارامترهای رشد) به صفحات گستردهٔ اکسل انجام شد. در نرم‌افزار اکسل میانگین داده‌ها محاسبه شد. سپس، در نرم‌افزار SPSS ابتدا پراکنش نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی و سپس جهت تعیین وجود یا فقدان اختلاف معنی‌دار از نقطه‌نظر شاخص‌های محاسبه‌شده از تحلیل واریانس یک‌طرفه (One Way-ANOVA) و آزمون دانکن (Duncan) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

جدول ۱- ترکیبات گیاه پنج‌انگشت (*Vitex agnus-castus*) (Ibrahim *et al.*, 2009).

Table 1. The components of *Vitex agnus-castus* (Ibrahim *et al.*, 2009).

	ایریدوئید	فلاوونوئیدها	آلکالوئیدها	گلوکوزیدها	استروئیدها
چوب	آکوبین آگنوسید	فلاوون-C-گلیکوزید (نوع اورنتین)	--	--	--
برگ	آکوبین آگنوسید اتروستوسید	کاستیسین اومورئینتین اورئنتین ایزورئنتین ایزوویتکسینا ایزوویتکسین-گلوکوزید لوتئولین-۷-گلیکوزید	ویتیسین	ویتکسین ویتکسینین	A4-3- کتوستر
میوه	آکوبین آگنوسید	کاستیسینا-۶-ایدروسیکامفرول-۳،۶،۷،۴ ترامتیل =اتر پندولینا کریزوسنلون D	--	کاستین	--

نتایج حاصل از مقایسهٔ میانگین شاخص‌های رشد ماهیان در طول دورهٔ پرورش در تحقیق حاضر، در جدول‌های ۵ تا ۹ خلاصه شده است. براساس نتایج مشخص شد که استفاده از سطوح مختلف عصارهٔ گیاه تأثیر معنی‌داری بر میزان بازماندگی و بقای بچه‌ماهیان نداشت. تیمار T3 به‌طور معنی‌داری بهترین ضریب تبدیل غذایی را در گورخرماهی ایجاد کرد. همچنین، با افزایش مقدار عصارهٔ جیرهٔ غذایی طی دورهٔ آزمایش، ضریب رشد ویژهٔ ماهیان افزایش یافت. بالاترین و پایین‌ترین شاخص افزایش وزن بدن به‌ترتیب در تیمار T3 و تیمار T0 به‌دست آمد. در تحقیق حاضر، بالاترین شاخص وضعیت در تیمار T3 و کمترین مقدار آن در تیمار T0 به‌دست آمد.

بحث

تحقیق حاضر به‌منظور بررسی تأثیر عصارهٔ هیدروالکلی گیاه پنج‌انگشت به‌منزلهٔ نوعی مادهٔ افزودنی محرک رشد در جیرهٔ غذایی گورخرماهی بر شاخص‌های رشد، شامل رشد ویژه (SGR)، ضریب تبدیل غذایی (FCR)، ضریب چاقی (CF)، درصد افزایش وزن بدن (BWG%) و میزان بازماندگی (SR%) ماهی مدل انجام گرفت. براساس نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر، بالاترین درصد بازماندگی بچه‌ماهیان در تیمار ۱۵ گرم عصارهٔ گیاه پنج‌انگشت و در روز صدوبیستم دورهٔ پرورش و کمترین مقدار بازماندگی در تیمار شاهد و در روز سی‌ام دورهٔ آزمایشی مشاهده شد (جدول ۲)، اما استفاده از سطوح مختلف عصارهٔ گیاه تأثیر معنی‌داری بر میزان بازماندگی و بقای بچه‌ماهیان نداشت. در این زمینه El-barbary و همکاران (2009) با مطالعهٔ تأثیر گیاه جعفری (*Petroselinum sativum*) بر ماهی تیلاپیا مشاهده کردند که کاربرد گیاه جعفری در جیرهٔ غذایی سبب بهبود شاخص‌های رشد و درصد بازماندگی می‌شود. همچنین، Moraki و همکاران (2014) نیز به نتایج مشابهی بر ماهی کوی (*Cyprinus carpio*) دست یافتند. دستیابی به این نتایج احتمالاً ناشی از اثرهایی است که گیاهان روی سوخت‌وساز بدن می‌گذارند.

Hassan و همکاران (2008) تأثیر غلظت‌های مختلف ساپونین‌های موجود در گیاه *Quillaja saponaria* را بر جنین ماهی گورخری بررسی کرده و مشاهده کردند که غلظت ۵ میکروگرم یا کمتر در هر میلی‌لیتر آب در جهت افزایش و بهبود رشد عمل‌کرد درحالی‌که غلظت ۱۰ میکروگرم یا بیشتر برای مرحلهٔ ابتدایی و جنینی ماهی گورخری کشنده بود. این محققان ۶ ساعت پس‌از لقاح جنین‌ها را در معرض غلظت‌های صفر، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم ساپونین گیاه *Quillaja* قرار دادند و به‌منظور بررسی تغییرات و تکامل جنین‌ها ۳۰، ۵۴ و ۷۲ ساعت پس‌از لقاح نمونه‌برداری انجام دادند. جنین‌هایی که درمعرض غلظت ۱۰ و ۲۰ میکروگرم ساپونین قرار گرفته بودند ۱۰۰ درصد مرگ‌ومیر را نشان دادند. بهبود ضریب تبدیل غذایی ماهیان در جیره‌های غذایی حاوی عصارهٔ گیاهی، احتمالاً به‌دلیل تأثیراتی است که عصاره‌های گیاهی بر سوخت‌وساز بدن ماهیان به‌وجود می‌آورند و بدین-

جدول ۲- میانگین درصد بازماندگی در گورخرماهی طی دورهٔ پرورش ۴ ماههٔ تغذیه شده با عصارهٔ گیاه.

Table 2. The average survival rate of *Danio rerio* fed on herbal extract, during a breeding period of 4 months.

منابع تغییر	روز ۳۰	روز ۶۰	روز ۹۰	روز ۱۲۰
شاهد (T_0)	۹۷/۲±۲/۳ a	۹۸/۸±۱/۴ a	۹۹/۱۴±۱/۴ a	۹۹/۵±۱/۱ a
جیرهٔ حاوی ۵ گرم عصاره (T_1)	۹۸/۱±۲/۲۲ a	۹۸/۹±۱/۷۲ a	۹۹/۷۱±۱/۸ a	۱۰۰±۱/۷ a
جیرهٔ حاوی ۱۰ گرم عصاره (T_2)	۹۸/۷±۲/۳۹a	۹۹/۵±۱/۱۱ a	۹۹/۸±۱/۱۴a	۱۰۰±۱/۷۲ a
جیرهٔ حاوی ۱۵ گرم عصاره (T_3)	۹۹/۸±۱/۳۲ a	۱۰۰±۱/۲ a	۱۰۰±۱/۳۲a	۱۰۰±۱/۵ a

جدول ۳- میانگین ضریب تبدیل غذایی (FCR) گورخرماهی طی دورهٔ پرورش ۴ ماههٔ تغذیه شده با عصارهٔ گیاه.

Table 3. The average food conversion ratio of *Danio rerio* fed on herbal extract, during a breeding period of 4 months.

منابع تغییر	روز ۳۰	روز ۶۰	روز ۹۰	روز ۱۲۰
شاهد (T_0)	۰/۲۶۰±۰/۰۲ a	۰/۰۷۶±۰/۰۲a	۰/۰۹۱±۰/۰۱a	۰/۰۹۸±۰/۰۵ a
جیرهٔ حاوی ۵ گرم عصاره (T_1)	۰/۰۹۱±۰/۰۲ b	۰/۰۸۳±۰/۰۲ b	۰/۰۹۲±۰/۰۲a	۰/۰۹۷±۰/۰۲ b
جیرهٔ حاوی ۱۰ گرم عصاره (T_2)	۰/۰۸۵±۰/۰۳ c	۰/۰۸۴±۰/۰۳ c	۰/۰۸۸±۰/۰۳b	۰/۰۸۳±۰/۰۲ c
جیرهٔ حاوی ۱۵ گرم عصاره (T_3)	۰/۰۹۱±۰/۰۵ c	۰/۰۹۲±۰/۰۴ d	۰/۰۷۹±۰/۰۵c	۰/۰۷۱±۰/۰۵ d

حروف انگلیسی متفاوت در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

The different letters in each row represent significantly different (p<0.05).

جدول ٤- میانگین ضریب رشد ویژهٔ (SGR) گورخرماهی طی دورهٔ پرورش ۴ ماههٔ تغذیه شده با عصارهٔ گیاه.

Table 4. The average specific growth rate of *Danio rerio* fed on herbal extract, during a breeding period of 4 months.

منابع تغییر	روز ۳۰	روز ۶۰	روز ۹۰	روز ۱۲۰
شاهد (T_0)	۰/۰۳۸±۰/۰۰۳ a	۰/۰۲۸±۰/۰۰۲a	۰/۰۲۶±۰/۰۰۱a	۰/۰۲۳±۰/۰۰۱ a
جیرهٔحاوی ۵ گرم عصاره (T_1)	۰/۰۷۳±۰/۰۰۴ b	۰/۰۴۳±۰/۰۰۲ b	۰/۰۴۰±۰/۰۰۲b	۰/۰۲۹±۰/۰۰۱ b
جیرهٔ حاوی ۱۰ گرم عصاره (T_2)	۰/۰۸۳±۰/۰۰۵ c	۰/۰۴۵±۰/۰۰۳ c	۰/۰۴۳±۰/۰۰۳c	۰/۰۳۳±۰/۰۰۲ b
جیرهٔحاوی ۱۵ گرم عصاره (T_3)	۰/۰۳۵±۰/۰۰۲ c	۰/۰۴۸±۰/۰۰۳ c	۰/۰۴۵±۰/۰۰۳c	۰/۰۸۵±۰/۰۰۵ b

حروف انگلیسی متفاوت در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می باشد.

The different letters in each row represent significantly different (p<0.05).

جدول ۵- میانگین درصد افزایش وزن بدن در گورخرماهی طی دورهٔ پرورش ۱۲۰ روزهٔ تغذیه شده با عصارهٔ گیاه.

Table 5. The average body weight gain of *Danio rerio* fed on herbal extract, during a breeding period of 4 months.

منابع تغییر	روز ۱۲۰
شاهد (T_0)	۲۵۲/۹۶۲±۱۷/۷۱ [a]
جیرهٔ حاوی ۵ گرم عصاره (T_1)	۴۲۵/۱۷۲±۲۱/۵۵ [b]
جیرهٔ حاوی ۱۰ گرم عصاره (T_2)	۵۴۱/۵۰۲±۳۳/۲۵ [c]
جیرهٔ حاوی ۱۵ گرم عصاره (T_3)	۵۴۱/۵۸۳±۳۳/۲۲ [c]

حروف انگلیسی متفاوت در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

The different letters in each row represent significantly different (p<0.05).

جدول ٦- میانگین شاخص وضعیت (CF) ویژهٔگورخرماهی طی دورهٔ پرورش ۴ ماههٔ تغذیه شده با عصارهٔ گیاه.

Table 6. The average condition factor of *Danio rerio* fed on herbal extract, during the breeding period of 4 month..

منابع تغییر	روز ۳۰	روز ۶۰	روز ۹۰	روز ۱۲۰
شاهد (T_0)	۲/۵۲۵±۰/۰۲۱ [a]	۲/۸۱۶±۰/۰۱۴ [a]	۳/۲۲۸±۰/۰۱۲ [a]	۳/۸۱۶±۰/۰۱۴ [a]
جیرهٔ حاوی ۵ گرم عصاره (T_1)	۳/۶۶۷±۰/۰۲۷ [a]	۲/۸۷۵±۰/۰۱۳ [b]	۳/۴۴۶±۰/۰۱۵ [b]	۳/۹۸۲±۰/۰۱۳ [b]
جیرهٔ حاوی ۱۰ گرم عصاره (T_2)	۳/۴۴۶±۰/۰۱۹ [a]	۲/۹۶۰±۰/۰۱۲ [b]	۳/۵۰۹±۰/۰۱۶ [c]	۴/۲۲۳±۰/۰۱۶ [c]
جیرهٔ حاوی ۱۵ گرم عصاره (T_3)	۳/۵۸۶±۰/۰۱۸ [a]	۲/۹۹۵±۰/۰۱۴ [b]	۳/۹۱۲±۰/۰۱۳ [c]	۴/۴۴۷±۰/۰۱۱ [c]

حروف انگلیسی متفاوت در هر سطر بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می باشد.

The different letters in each row represent significantly different (p<0.05).

ترتیب میزان جذب غذا و کارایی آن افزایش می‌یابد (Naderi *et al.*, 2009). برطبق نتایج تحقیق حاضر، بالاترین ضریب تبدیل غذایی (FCR) در تیمار شاهد در روز سی‌ام دورهٔ پرورش (۰/۲۶۰±۰/۰۲) در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در تیمار ۱۵ گرم عصارهٔ گیاه پنج‌انگشت در روز صدوبیستم دورهٔ پرورش (۰/۰۷۱±۰/۰۵) به‌دست آمد (جدول ۳). نتایج مبین این است که جیرهٔ حاوی ۱۵ گرم عصارهٔ گیاه پنج‌انگشت در طول دورهٔ پرورش به‌طور معنی‌داری بهترین ضریب تبدیل غذایی را در گورخرماهی ایجاد می‌کند. ضریب تبدیل غذایی می‌تواند نشان-دهندهٔ قابلیت جیره در افزایش رشد گورخرماهی باشد که به شاخص‌هایی مانند افزایش وزن و میزان مصرف غذا در طول دورهٔ پرورش وابسته است (Alamdari, 2011). نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که جیرهٔ حاوی ۱۵ گرم عصاره در طول دورهٔ پرورش به‌طور معنی‌داری بهترین ضریب تبدیل غذایی را در گورخرماهی ایجاد می‌کند (جدول ۳)؛ که با نتایج Moraki و همکاران (2014) در ماهی کوی مطابقت دارد، به‌طوری‌که این محققان نیز کاهش ضریب تبدیل غذایی را درنتیجهٔ استفاده از گیاه جعفری مشاهده کردند.

همچنین بررسی‌های محققان دیگر نیز نشان داده است که گیاهان دارویی دارای خاصیت تحریک‌کنندگی و ارتقاءدهندگی رشد هستند (Jayaprakas & Eupharsia, 1996; Citaraus *et al.*, 2002). در تحقیق حاضر، با افزایش مقدار عصارهٔ جیرهٔ غذایی طی دورهٔ آزمایش، ضریب رشد ویژهٔ ماهیان افزایش یافت به‌طوری‌که بالاترین مقدار آن در تیمار حاوی ۱۵ گرم عصاره در صدوبیستم (۰/۰۸۵±۰/۰۰۵) و پایین‌ترین میزان این شاخص در تیمار شاهد در روز صدوبیستم (۰/۰۲۳±۰/۰۰۱) به‌دست آمد و در پایان دورهٔ آزمایش، بین تیمارهای حاوی عصارهٔ گیاهی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ولیکن بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی اختلاف

معنی‌داری وجود داشت (جدول ۴). Hajibagloo و همکاران (2014) اثر سطوح مختلف (صفر، ۴۰۰،۲۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیرهٔ غذایی) عصارهٔ اتانولی گیاه *Corchorus oliturius* را بر شاخص‌های رشد در ماهی دم شمشیری (*Xiph-ophorus helleri*) تحت بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که شاخص‌های رشد در تیمارهای آزمایشی به‌طور معنی‌داری بیش‌از تیمار شاهد بود که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد.

در تحقیق حاضر، شاخص افزایش وزن بدن در بین شاخص تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد اما بین تیمارهای حاوی ۱۰ و ۱۵ گرم عصارهٔ گیاه اختلاف غیرمعنی‌دار بود. بالاترین و پایین-ترین این شاخص به‌ترتیب در تیمار ۱۵ گرم عصارهٔ (۵۴۱/۵۸۳±۳۳/۲۲) و تیمار شاهد (۲۵۲/۹۶۲±۱۷/۷۱) به‌دست آمد (جدول ۵). Moraki و همکاران (2014) تأثیر گیاه جعفری (*Petroselinum sativum*) را بر شاخص رشد و بقای ماهی کوی (*Cyprinus carpio*) بررسی کردند. نتایج نشان داد ماهیان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی گیاه جعفری در شاخص‌های رشد، تغذیه‌ای و بقا نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی‌داری داشتند به‌طوری‌که بیشترین افزایش وزن، افزایش طول، میزان رشد ویژهٔ وزنی، رشد ویژهٔ طولی و کمترین ضریب تبدیل غذایی و بیشترین میزان درصد رشد روزانه در تیمار حاوی ۰/۵ گرم جعفری مشاهده شد و در تحقیق حاضر نیز جیرهٔ حاوی عصارهٔ گیاه نسبت به گروه شاهد در وضعیت رشد و بقای بهتری قرار داشتند. در تحقیق حاضر، فاکتور وضعیت (CF) در ماهیان گروه‌هایی که با جیرهٔ حاوی عصارهٔ گیاه پنج‌انگشت تغذیه شده بودند، به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود (جدول ۶). استفاده از ضریب چاقی یا شاخص وضعیت (CF) جهت بیان رابطهٔ طول- وزن ماهی روشی مناسب است که می‌توان از این شاخص به‌منظور بررسی تغییرات جثهٔ ماهی در طول دورهٔ پرورش استفاده کرد(Biswas, 1993). همچنین، این فاکتور شاخصی مفید و مناسب در بررسی‌های رژیم غذایی ماهیان و مطالعات زیست‌شناختی است. این‌گونه بیان شده است که هرچه میزان شاخص وضعیت در ماهیان بیشتر باشد، احتمالاً غذای فراوانی برای رشد و نمو بدن دردسترس بوده است (Sattari, 2002). در تحقیق حاضر، بالاترین شاخص وضعیت در تیمار حاوی ۱۵ گرم عصاره، در روز صد و بیستم دورهٔ پرورش (۴/۴۴۷±۰/۰۱۱) و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد در روز سی‌ام دورهٔ پرورش (۲/۵۲۵±۰/۰۲۱) به‌دست آمد (جدول ۶). گزارش شده است که استفاده از گیاه *Gynostemma pentaphyllum* در جیرهٔ غذایی ماهی کپور علف‌خوار (*Ctenopharyngodon idella*) سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی، افزایش وزن و افزایش ضریب رشد ویژه می‌شود (Wu *et al.*, 1998). در تحقیق حاضر، شاخص وضعیت بین تیمارهای مختلف در روز سی‌ام دورهٔ پرورش تفاوت معنی‌داری نشان نداد اما در دوره‌های دیگر آزمایشی بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد تفاوت معنی-داری وجود داشت. با توجه به نتایج تحقیق حاضر و همچنین با توجه به مهم‌بودن شاخص اندازه در ماهیان تزئینی، بهترین جیرهٔ غذایی برای گورخرماهی جیرهٔ حاوی ۱۵گرم عصارهٔ گیاه پنج-انگشت است. Biranvand و همکاران (2015) تأثیر سطوح مختلف (صفر، ۰/۵، ۱، و ۱/۵ درصد) جلبک اسپرولینا (*Spir-ulina* sp.) بر رشد و تغذیهٔ گورخرماهی بررسی کردند. نتایج نشان داد که تیمارحاوی ۱ درصد پودر جلبک اسپیرولینا سبب بهبود شاخص رشد و تغذیه در گورخرماهی می‌شود که در تحقیق حاضر نیز وجود عصارهٔ گیاه در جیرهٔ غذایی سبب افزایش شاخص رشد در ماهیان شد. Sivaram و همکاران (2004) گزارش کردند که افزودن عصاره‌های *Ocimum sanctum* و *With-ania somnifera* به جیرهٔ غذایی ماهی گروپر (*Epinephelus tauvina*) سبب ارتقای رشد ماهیان شد. Mongelli و همکاران (1996) گزارش کردند وجود گیاهان دارویی در جیرهٔ میگو، سبب افزایش رشد و بهبود در ضریب تبدیل غذایی شد. Turan (2005) با کاربرد گیاهان دارویی به عنوان محرک رشد در جیرهٔ گربه ماهی نتایج مشابهی را گزارش کرد. Ahilan و همکاران (2010) گزارش کردندکه با کاربرد گیاهان دارویی در جیرهٔ غذایی ماهی طلایی شاهد افزایش در رشد این ماهی شده‌اند که با نتایج تحقیق حاضر روی گورخرماهی هم‌خوانی دارد. Naji و همکاران (2014) تأثیر عصارهٔ گیاه پنج انگشت در دوزهای ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم وزن بدن، بر ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*) بررسی کردند. نتایج تأثیر مثبت عصارهٔ گیاه را بر ماهی نشان داد که با نتایج مطالعهٔ حاضر هم‌خوانی دارد. در مجموع، نتایج تحقیق حاضر حاکی از

آن است که استفاده از عصارهٔ گیاه پنج‌انگشت در سطوح تحت مطالعه، تأثیر مثبت و معنی‌داری بر افزایش عملکرد رشد و تغذیهٔ گورخرماهی دارد. از آنجایی که ثابت شده عصارهٔ این گیاه حاوی مواد حیاتی(بیواکتیو) نظیر آلکالوئیدها، فلاوونوئیدها، پیگمانت‌ها، فنولیک‌ها، ترپنوئیدها، استروئیدها و چربی‌های ضروری است و این ترکیبات در فعالیت‌های مختلفی نظیر افزایش رشد و تحریک اشتها نقش دارند (Rempel & Schlenk, 2008)، با توجه به نتایج تحقیق حاضر، می‌توان گفت که استفاده از دوز ۱۵ گرم و دوزهای بالاتر از آن می‌تواند در بهبود عمل‌کرد رشد و تغذیهٔ ماهی نقش مثبت و تأثیرگذاری داشته باشد و درجهت کاهش هزینه‌های پرورشی و به‌منزلهٔ جایگزین مناسبی برای مکمل‌های غذایی شیمیایی، گزینه‌ای مناسب و مقرون به صرفه است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مسئولین سالن آبزی‌پروری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، آقای دکتر جافر و تمامی افرادی که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند، تشکر می‌گردد.

REFERENCES

Ahilan, B., Nithiyapriyatharshini, A. and Ravaneshwaran, K. 2010. Influence of certain herbal additives on the growth, survival and disease resistance of goldfish, *Carassius auratus* (Linnaeuse). Tamilnadu. – The J. Veteri. Animal Sci. 6: 5-11.

Alamdari, R. 2011. Effect of carotenoids in red boroki on growth and pigmentation in goldfish (*Carassius auratus*). – Azad University Branch of Ahvaz. 56P.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of AOAC, Vol.1, 15th edn. – Association of Official Analytical Chemists, Arlington, USA. 245 pp.

Bahrebar, M., Yavar Moghadam, H., Bahrebar, A. and Bahrebar, A. 2014. Effect of hydroalchoholic extract *Vitex agnus castus* on testosterone in mice. – J. Environ. Animal 6: 57-64.

Beiranvand, M., Ghaeni, M. and Velayatzadeh, M. 2015. Impact of *Spirulina sp.* on growth and food intake in *Danio rerio* (Hamilton, 1822). – Nova Bio. Rep. 2: 207-215.

Biswas, S.P. 1993. Manual of Method in Fish Biology. – South Asian Publication, Pvt.Ltd. New Dehli, International Book co. 145 pp.

Chapman, F.A., Fitz-coy, S.A., Thunberg, E.M. and Adams, C.M. 2007. United States of America trade in ornamental fish. – The J. World Aqua. Soci. 28: 1-10.

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. – The J. Asian Fish. Sci. 5: 21-32.

El-Barbary, M.I. and Mehrim, A.S. 2009. Protective effect of antioxidant medicinal herbs, Rosemary and Parsley, on *Subacute aflatoxicosis* in *Oreochromis niloticus*. – The J. Fish. Aqua. Sci. 4: 178-190.

Ghosal, I. and Chakraborty, S.B. 2014. Effects of the aqueous leaf extract of *Basella alba* on sex reversal of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. – IOSR J. Pharm. Biol. Sci. (IOSR-JPBS) 9: 162-164.

Ghosh, S., Sinha, A. and Sahu, C. 2007. Effect of probiotic on reproductive performance in female live bearing ornamental fish. – The J. Aqua. Res. 38: 518526.

Hajibagloo, A.A. 2014. Effects of the ethanolic extract *Corchorus olitorius* on some reproductive factors and growth in fish swordtail (*Xiphophorus helleri*). – J. Environ. Animal. 6: 47-56.

Hassan, S.M., Moussa, E.A. and Abbott, L.C. 2008. Effects of (*Quillaja saponaria*) on early embryonic zebra fish (*Danio rerio*) development. – The Inter. J. Toxic. 27: 273-278.

Hill, J.E., Kapuscinski, A.R. and Pavlowich, T. 2011. Fluorescent transgenic *Zebra Danio* more vulnerable to predators than wild-type fish. – The Trans. Ameri. Fish. Socie. 140: 1001-1005.

Ibrahim, N., Shalaby, A., Farag, R., Elbaroty, G. and Hassan, E. 2009. Chemical composition and biological evaluation of *Vitex agnus-castus*. – Medic. Aroma. Plant Sci. and Biotech. 3: 27-31.

Javed, M., Durrani, F.R., Hafees, A., Khan, R.U. and Ahmad, I. 2009. Effect of aqueous extract of plant mixture

on carcass quality of broiler chicks. ARPN. – The J. Agricul. Biol. Sci. 4: 37-40.

Jayaprakas, V. and Eupharsia, J. 1996. Growth performance of *Labeo rohita* (Ham.) Livol (IHF 1000), a herbal product. – Proceeding of The Indian Nati. Sci. 63: 1-10.

Koerber, A.S. and Kalishman, J. 2009. Preparing for a semiannual IACUC inspection of a satellite Zebrafish (*Danio rerio*) facility. – The J. Americ. Assoc. Labor. Anim. Sci. 48: 65-75.

Lawrence, C. 2007. The husbandry of Zebrafish (*Danio rerio*): A review. – The J. Aquac. 269: 1-20

Luz, R.K., martinez-Alvarez, R.M., Pedro, D. and Delgado, N. 2008. Growth, food intake and metabolic adaptations in gold fish (*Carassius auratus*) exposed to different salinities. – The J. Aqua. Sci. 276: 171-178.

Mongelli, E., Martino, V. and Coussio, J. 1996. Screening of Argentina medicinal plants using the brine shrimp micro well cytotoxicity assy. – The J. Pharm. 34: 249-254.

Moraki, N., Dadgar, Sh. and Naderi, M.S. 2014**.** Effect of *Petroselinum sativum* on growth indices and survival on Koi (*Cyprinus carpio*). – J. Develop. Aqua. 8: 63-72.

Naderi, Gh., Jafari Dinali, N. and Jafarian Dehkordi, A. 2009. Analysis of compound in four extract and investigation of phybrinolitic activity in invitro condition. – J. Physio. Pharma. 13: 423-429.

Naji, T., Ghafouri, S. and Hosseinzade Sahafi, H. 2014. The Histological effects of *Cucurbita pepo*, *Silybum marianum*, *Linum usitatissmum*, *Vitex agnus-castus* 17β estradiol on ovarian tissue in three Spot Gorami (*Trichogaster trichopterus*). – The Bull. Environ. Pharma. Life Sci. 3: 120-127.

Newall, C., Anderson, L. and Phillipson, J. 1996. Herbal medicines, 3rd ed, London. – The Pharm. Press. 1920P.

Quigley, I.K. and Parich, D.M. 2002. Pigment pattern formation in Zebrafish: A model for developmental genetics and the evolution of form. – The J. Micros. Res. Tech. 58: 442-455.

Rempel, M.A. and Schlenk, D. 2008. Effects of environmental estrogens and anti-androgens on endocrine function, gene regulation, and health in fish. International review. – The. J. Cell. Mol. Biol. 267: 207-252.

Russo, M. and Galletti, G.C. 1996. Medicinal properties and chemical composition of *vitex egnus-castus* l.: A review. – The Acta Horticulturae (International Society for Horticulturae Science) 426: 105- 112.

Saddhe, A.A., Banerjee, G., Jamdadeh, R.A. and Thete, K.D. 2013. Zebrafish the reliable vertebrate model organism. – DCSI 91: 172-182.

Sattari, M. 2002. Ichtyology (1) Physiology. – Naghsh Mehr Publication. The First Publication, Tehran. 662P.

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. – The J. Aqua. 237: 9-20.

Turan, F. and Akyurt, I. 2005**.** Effects of red clover extract on growth performance and body composition of African catfish, *Clarias gariepinus*. – The J. Fish Sci. 71: 618-620.

Wu, W., Ye, J., Lu, Q., Wu, H. and Pan, Q. 1998. Studies on *Gynostemma pentaphyllum* used as fish feed additives. – The J. Shanghai Fish Univer. 7: 367-370.

*****

Enayat Gholampour, T., Jafari, V., Imanpour, M.R. and Kolangi, H. 2017. The effects of hydro-alcoholic extract of *Vitex agnus-castus* L. on growth indices and survival rate in Zebrafish (*Danio rerio*). – Nova Biol. Rep. 3: 269-278.

عنایت غلام‌پور، ط.، جعفری، و.، ایمان‌پور، م.ر. و کلنگی، ح. ۱۳۹۵. تأثیر عصارهٔ هیدروالکلی گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus-castus* L.) بر شاخص‌های رشد و نرخ بقاء در گورخر ماهی (*Danio rerio*).– یافته‌های نوین در علوم زیستی ۳: ۲۷۸-۲۶۹.