# اثر عصاره آبی گیاه ترخون (*Artemisia dracunculus*) بر تغییرات هورمون‌های جنسی و ویژگی‌های بافت شناسی تخمدان در ماهی گورامی سه‌خال (*Trichopodus trichopterus*)


- **رضا چنگیزی***: گروه شیلات، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی بابل، ایران
- **زهرا غیاثوند**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد آز ادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی آزادشهر، ایران
- **سیدمحمد حسینی**: دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی بابل، ایران
- **سپیده میرزابابانیا**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی بابل، ایران
- **مهشید شاملوفر**: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد آز ادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی آزادشهر، ایران


تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۵

## چکیده

**این تحقیق به‌منظور بررسی اثر عصاره آبی گیاه ترخون (*Artemisia dracunculus*) بر روی تغییرات بافت‌شناسی تخمدان و سطوح هورمون‌های ۱۷-بتا استرادیول و ۱۱-کتوتستوسترون در ماهی گورامی سه خال (*Trichopodus trichopterus*)، انجام شد. در این تحقیق تعداد ۱۲۰ عدد ماهی گورامی در ٤ گروه (شامل یک گروه شاهد و ۳ گروه تیمار و هر یک با سه تکرار) به‌مدت ٦۰ روز، با جیره حاوی مقادیر مختلف عصاره گیاه ترخون (به‌میزان ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تغذیه شدند. سپس از ماهیان خونگیری شده و میزان هورمون‌های جنسی سرم خون (۱۷-بتا استرادیول و ۱۱-کتوتستوسترون) اندازه گیری شد. هم‌چنین جهت انجام مطالعات بافت‌شناسی، از بافت تخمدان ماهیان نمونه‌برداری شد. نتایج نشان داد که میزان هورمون‌های کتوتستوسترون و ۱۷-بتااسترادیول در همه تیمارها اختلاف معنی‌داری با هم داشته و بیش‌ترین آن‌ها در تیمار شاهد و کم‌ترین میزان هورمون در تیمار ۳ مشاهده شد($p<۰/۰۵$). هم‌چنین مشخص شد که عصاره ترخون اثر نامطلوبی بر رشد و تکامل تخمدان این ماهی داشت.**

**کلمات کلیدی:** ماهی گورامی سه خال، ترخون، هورمون جنسی، بافت شناسی تخمدان



* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: **rech76ir@gmail.com**

## مقدمه

امروزه گرایش بسیاری به استفاده از مواد گیاهی در تغذیه آبزیان جهت ارتقا و بهبود کارایی عملکرد سیستم‌های مختلف بدن وجود دارد. در این بین اثرات بسیاری از گیاهان هم‌چون ترخون، در ماهیان ناشناخته است. ترخون یا تلخون (*Artemisia dracunculus*) گیاهی است علفی، پایا از تیره کاسنیان و راسته میناسایان و به شکل بوته با برگ‌های باریک و نوک تیز و به رنگ سبز تیره که برگ‌های قاعده ساقه گیاه دارای سه لوب است. ترخون یک گیاه قدیمی چند ساله است که ارتفاع آن ممکن است به ۶۰ سانتی‌متر و بیش‌تر نیز برسد. گیاه ترخون از خانواده گل آفتاب‌گردان است مزه گیاه تازه کمی تند و سوزاننده است (Surburg و Panten، ۲۰۰۶). ترخون تازه تا ۳٪ اسانس دارد که حاوی ۶۰ تا ۷۰٪ متیل کاویکول (استراگول) و مقداری پارامتوکسی سینامیک آلدهید (ماده تلخ آن) است. دیگر ترکیبات اسانس شامل آلفاپی نن، بتاپی نن، کامفن، لیمونن، سیس و ترانس اوسی من، آلفا فلاندرن، لینالول، اسیدبوتیریک، دلتا۴ کارن، ژرانیول و اوژنول می‌باشد (Zeller و Rychlik، ۲۰۰۷). گورامی‌ها ماهیانی پرتوباله از راسته سوف‌ماهی‌شکلان (Perciform) واز خانواده Osphronemidae هستند (Topfer و Schindler، ۲۰۰۹). گورامی سه خال (*Trichopodus trichopterus*) بومی هندوستان، شبه جزیره مالای و هندوچین است اما این ماهی امروزه به‌عنوان یکی از ماهیان زینتی در اغلب آکواریوم‌های دنیا ازجمله ایران، یافت می‌شود (Topfer و Schindler، ۲۰۰۹). این ماهی دارای درخشش نقره‌ای در پهلوها است. پشت آن تیره و طرفین آن متمایل آبی نقره‌ای است. پهنای باله مخرجی کم و بر روی آن دارای نقاط زیبای نارنجی رنگ می‌باشد (Topfer و Schindler، ۲۰۰۹).گورامی سه خال یک ماهی چندبار تخم‌ریزی کننده و وابسته به جنس نر است و تخمدان‌های ماهیان ماده نیز دارای تکامل غیرهم‌زمان هستند (Degani، ۱۹۹۳). تکامل تخمدانی این ماهی در سه ماهگی آغاز می‌شود و زرده‌سازی نیز پس از ۵ ماه، کامل می‌گردد و در این زمان است که ماهی ماده آماده تخم‌ریزی است. تمامی گورامی‌ها با ساختن حباب‌های هوا در سطح آب تخم‌ریزی می‌کنند. کاهش نور به‌وسیله تراکم گیاهان، اثری مثبت بر ساخت آشیانه دارد و در شرایط تاریکی، بیش‌تر از شرایط روشنایی تخم‌ریزی می‌کنند (Jackson و همکاران، ۲۰۰۹).هورمون‌های موثر در رسیدگی گنادها شامل سه دسته هورمون هستند. دسته اول هورمون‌های آندروژنی، دسته دوم هورمون‌های پروژسترونی و دسته سوم هورمون‌های استروژنی هستند. از هورمون‌های آندروژنی می‌توان به ۱۱- کتوتستوسترون اشاره نمود. از مهم‌ترین هورمون‌های پروژسترونی می‌توان از پروژسترون و ترایول نام برد و از هورمون‌های استروژنی که بیش‌ترین تاثیر را در رسیدگی دارند، می‌توان از استرون و استرادیول (E2) نام برد ( Abbasi و Matinfat، ۲۰۰۹). طی این تحقیق، با توجه به کمبود اطلاعات در رابطه با تاثیر ترخون بر آبزیان، اثرکاربردعصاره ترخون درجیره غذایی بر تغییرات هورمون‌های جنسی و بافت شناسی تخمدان ماهی گورامی سه خال مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

ماهی گورامی سه خال به اندازه ۲ سانتی‌متر از شرکت ماهیران خریداری و عصاره ترخون نیز به شیوه عصاره گیری آبی با استفاده از دستگاه GCmass تهیه شد (Sabetsarvestani و همکاران، ۲۰۱۳). در این تحقیق تعداد ۱۲۰ عدد ماهی گورامی در ۴ گروه (شامل یک گروه شاهد و ۳ گروه تیمار و هر یک با سه تکرار) به‌مدت ۶۰ روز، با جیره حاوی مقادیر مختلف عصاره گیاه ترخون (به‌میزان ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تغذیه شدند (جدول ۱). این تحقیق در کارگاه ماهیان آکواریومی آلفا در شهر تهران و در سال ۱۳۹۴ صورت پذیرفت.

**شرایط نگه‌داری ماهی:** غذادهی به‌صورت روزانه در ۴ وعده و غذادهی اولیه بر حسب ۳ تا ۴ درصد وزن توده زنده انجام شد و به تدریج با بررسی وضعیت آکواریوم‌ها و میزان غذای خورده شده و خورده نشده، عمل غذادهی در حد سیری صورت گرفت. برای تهیه جیره پایه از ترکیب غذای پایه ماهیان زینتی (۴۱٪ پروتئین خام، ۵٪ فیبر، ۶٪ چربی، ۱۲٪ رطوبت و ۸٪ خاکستر) استفاده شده و براساس تیمار مورد نظر نسبت به افزودن عصاره ترخون اقدام گردید. جهت سیفون کردن، هر روز به‌میزان ۱۰٪ حجم آب مخزن برداشت شد که جهت جبران آن به‌همین مقدار آب مانده کلرزدایی شده اضافه شد. در طول دوره ۶۰ روزه آزمایش میزان دما، اکسیژن و pH به‌صورت روزانه‌به‌ترتیب با استفاده از دماسنج، اکسیژن‌متر و pHمتر اندازه‌گیری گردید که در کل دوره آزمایش، میزان دمای آب ۲۹ الی ۳۰ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن ۸ الی ۹ میلی‌گرم در لیتر pH معادل ۷/۵ تا ۸/۲، آمونیاک کم‌تر از ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر و نیترات کم‌تر از ۱۲/۵ میلی گرم بر لیتر بوده است. خونگیری و تهیه نمونه بافتی در پایان دوره صورت پذیرفت.

**زیست‌سنجی:** وزن ماهیان با ترازویی با دقت ۰/۰۱ گرم قبل از شروع آزمایش و در طول دوره نیز هر ۱۵ روز یک‌بار اندازه‌گیری شد. جهت زیست‌سنجی ابتدا ماهیان هر مخزن به‌وسیله محلول اوژنول (عصاره گل میخک) به‌میزان ۰/۵ میلی‌لیتر در یک لیتر آب بی‌هوش

شده، سپس توسط پارچه تنظیف، خشک و زیست‌سنجی گردیدند (Firouzbakhsh، ۲۰۱۱).

**جدول۱: معرفی جیره غذایی گروه‌های شاهد و تیمار**

| تیمار | ترکیبات |
|---|---|
| شاهد | غذای پایه |
| تیمار۱ | غذای پایه+عصاره ترخون(۵۰۰میلی‌گرم برکیلوگرم وزن ماهی) |
| تیمار۲ | غذای پایه+عصاره ترخون(۱۰۰۰میلی‌گرم برکیلوگرم وزن ماهی) |
| تیمار۳ | غذای پایه+عصاره ترخون(۲۰۰۰میلی‌گرم برکیلوگرم وزن ماهی) |

**مطالعات بافت‌شناسی:** این مطالعات در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران صورت پذیرفت و جهت ارزیابی بافتی نمونه‌های اخذ شده، بافت تخمدان متعاقب کالبدگشایی در بافر فرمالین قرار داده شد و پس از فیکس شدن به دستگاه اتوتکنیکون منتقل و مراحل آبگیری و شفاف‌سازی و آغشتگی با پارافین انجام پذیرفت. سپس بلوک‌های پارافینی به‌وسیله تانک پارافین از این نمونه‌های آماده تهیه گردید و پس از انجام پروسه‌های رایج بافت‌شناسی برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون توسط دستگاه میکروتوم تهیه و با روش هماتوکسیلین و ائوزین (H & E) رنگ‌آمیزی شد و زیر میکروسکوپ نوری ارزیابی گردید (Johnson و همکاران، ۱۹۹۸).

**تعیین میزان هورمون‌های جنسی:** جهت تعیین هورمون‌های جنسی ابتدا از ماهیان در آخرین روز خونگیری شد. بدین‌منظور متعاقب بی‌هوش نمودن و زیست‌سنجی ماهیان، به‌کمک روش قطع ساقه دمی از ماهیان خونگیری شد و توسط دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ بار در دقیقه و به‌مدت ۵ دقیقه، سانتریفیوژ گردید تا سرم خون تهیه گردد. نمونه‌های سرم تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۲۰- درجه قرار گرفت. مطالعه مقادیر هورمون‌های استروئیدی ماهیان پس از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای محیط به‌روش Radio Immune Assay و با استفاده از دستگاه گاماکانتر تمام اتوماتیک LKB و توسط کیت‌های هورمونی انجام شد. اندازه‌گیری مقادیر هورمون ۱۷- بتا استرادیول با استفاده از کیت هورمونی DSL-4300 و مقادیر هورمون تستوسترون با استفاده از کیت هورمونی DSL-4000 انجام شد (Evans و همکاران، ۲۰۱۳).

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** برای تجزیه و تحلیل آماری پس از همگنی داده‌ها با انجام آزمون Kolmogorov–Smirnov، روش تجزیه و تحلیل آماری به‌وسیله نرم‌افزار SPSS صورت گرفت. نمودارها نیز در محیط EXCEL رسم گردید.

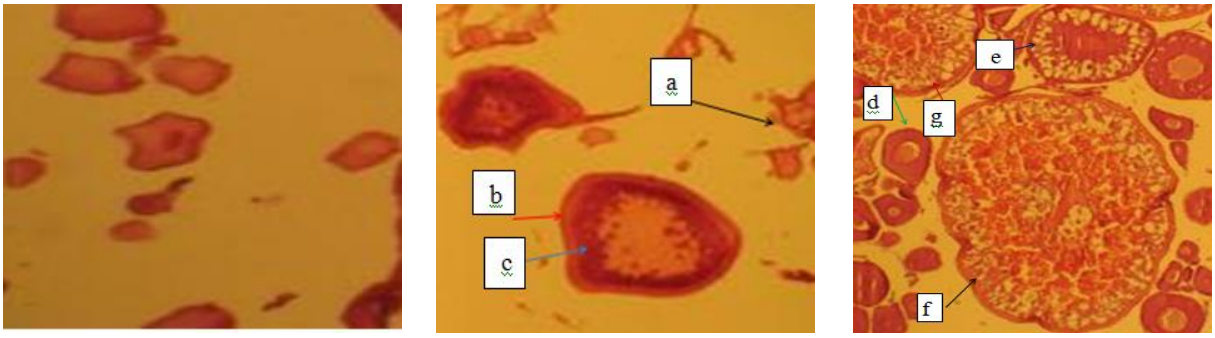
## نتایج

نتایج مربوط به هورمون‌شناسی نشان داده است که میزان هورمون‌های ۱۱-کتوتستوسترون و ۱۷-بتااسترادیول در همه تیمارها اختلاف معنی‌داری با هم داشته‌اند و بیش‌ترین آن‌ها در تیمار شاهد و کم‌ترین میزان هورمون در تیمار ۳ که ماهیان این تیمار، بیش‌ترین میزان عصاره ترخون را دریافت نموده بودند، مشاهده شد ($p<0/05$) (جدول۲). نتایج بافت‌شناسی (شکل‌های الف، ب و ج) نیز نشان‌دهنده تاثیر منفی عصاره ترخون بر بافت تخمدان ماهی گورامی سه خال بود به طوری‌که تصاویر مقاطع بافت‌شناسی تخمدان ماهیان تیمارهای مختلف (شکل۱) نشان داد که ماهیان تیمار شاهد دارای تخمدان سالم هستند اما ماهیان تیمارهای استفاده نموده از عصاره ترخون، عدم تکامل را نشان می‌دهند.

**جدول ۲: مقایسه مقادیر هورمون‌های جنسی (میانگین و انحراف معیار) در ماهی گورامی سه خال تغذیه شده با سطوح مختلف عصاره ترخون**

| هورمون | شاهد (میلی گرم بر کیلوگرم ۰) | عصاره ترخون (میلی گرم بر کیلوگرم ۵۰۰) | عصاره ترخون (میلی گرم بر کیلوگرم ۱۰۰۰) | عصاره ترخون (میلی گرم بر کیلوگرم ۲۰۰۰) |
|---|---|---|---|---|
| ۱۱- کتو تستوسترون | ۱/۱۶±۰/۰۵ $^{d}$ | ۰/۹۰ ±۰/۰۰۵$^{c}$ | ۰/۵۱ ±۰/۰۱$^{b}$ | ۰/۱۵ ±۰/۰۱ $^{a}$ |
| ۱۷-بتا استرادیول | ۲/۰۳±۰/۰۵ $^{d}$ | ۱/۰±۰/۰ $^{c}$ | ۰/۵۰±۰/۰۰ $^{b}$ | ۰/۱۲ ±۰/۰۱ $^{a}$ |

حروف مشابه در یک ردیف دارای اختلاف نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها می‌باشند ($P>0/05$).




الف ب ج

**شکل ۱: مقطع بافتی تهیه شده از تخمدان ماهی گورامی سه خال در تیمارهای مختلف** (الف) تیمار شاهد: بزرگ‌نمایی X ۱۰، (d) اووسیت اولیه، (e) کورتیکال آلوئولوس، (f) مرحله زرده‌سازی، (g) اووسیت بالغ. (ب) تیمار ۱: بزرگ‌نمایی X ۱۰، رنگ‌آمیزی H&E. (a) آتروفی و تحلیل فولیکول‌ها، (b) ضخیم شدن زونا رادیاتا، (c) ضخیم شدن پوشش زرده. (ج) تیمار ۲: بزرگ‌نمایی X ۴۰، رنگ‌آمیزی H&E. آتروفی و تحلیل فولیکول‌ها.

## بحث

نتایج مربوط به هورمون‌شناسی نشان داد که میزان هورمون‌های ۱۱- کتو تستوسترون و ۱۷-بتا استرادیول در همه تیمارها اختلاف معنی‌داری با هم داشتند. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان هورمون در گروه شاهد و کم‌ترین آن در تیمار ۳ مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). این امر نشان می دهد که عصاره ترخون بر روی تکامل جنسی و القای روند طبیعی تغییرات هورمونی جهت آمادگی برای تولیدمثل ماهی گورامی سه خال، تاثیر کاملاً منفی دارد و هرچه میزان عصاره مصرفی ترخون بیش‌تر باشد، اثر مضر و منفی آن بر تکامل جنسی این ماهی بیش‌تر است. به‌طوری‌که میزان هر دو هورمون مذکور با افزایش دوز عصاره ترخون مصرفی، در مقایسه با دوزهای کم‌تر، کاهش بیش‌تری یافت. این نتیجه به‌طورکلی بیانگر تاثیر منفی عصاره ترخون بر بافت غدد جنسی ماهی گورامی سه خال و ایجاد اختلال در روند تکامل این غدد و ساخت و ترشح هورمون‌های جنسی است. از طرفی با بررسی بافت شناسی نیز مشخص شد که عصاره ترخون تاثیر منفی بر تکامل تخمدانی ماهی گورامی سه خال دارد، به‌طوری‌که رسیدگی جنسی در بافت تخمدان ماهیان تیمار شاهد مشاهده شد اما تخمدان تیمارهای استفاده نموده از عصاره ترخون تحلیل رفته که با افزایش دوز مصرفی ترخون، عدم تکامل تخمدانی به‌صورت واضح‌تر مشاهده شد. در واقع در ماهیان تیمار شاهد که در تغذیه آن‌ها از عصاره ترخون استفاده‌نشد، تغییرات هورمونی و بافت‌شناسی مناسبی جهت رسیدگی جنسی ایجاد گردید اما روند این تغییرات در ماهیان تیمارهای دریافت کننده عصاره ترخون کم و یا متوقف گردید.

رشدو بلوغ تخمک‌ها شامل مراحل متفاوتی در ماهیان استخوانی است که این مراحل تحت کنترل هورمون‌های مختلف از قبیل ۱۱-کتوتستوسترون، پروژسترون و ۱۷-بتااسترادیول است. هورمون‌های استروئیدی به‌عنوان هورمون‌های درون ریز نهایی تاثیرگذار در توسعه گنادی هماهنگ با هورمون‌های گنادوتروپین(GTH) هیپوفیز شناخته شده‌اند. یکی از این هورمون‌های استروئیدی که ساخت آن‌ها در سلول‌های غیرجنسی گنادها صورت می گیرد، هورمون ۱۱-کتوتستوسترون می‌باشد که باعث اعمال عملکردهای مکمل درطول توسعه بیضه درجنس نر می‌گردد و۱۷-بتا استرادیول نیز هورمونی استروئیدی است که باعث تحریک سنتز و ترشح ویتلوژنین درکبد و تجمع آن در اووسیت‌ها می‌گردد. به‌طورکلی هورمون‌های استروئیدی اثرات معنی‌داری بر روی رشد گنادها دارند و در این ارتباط، ۱۷-بتا استرادیول و ۱۱- کتو تستوسترون بیش‌ترین اثر را دارند (Evans و همکاران، ۲۰۱۳؛ Abbasi و Matinfat، ۲۰۰۹؛ Johnson و همکارن، ۱۹۹۸). طی مطالعات و تحقیقاتی که طی سال‌های اخیر انجام شده است، مشخص شده که گیاهان خاصی می‌توانند در تمام اندام‌ها و دستگاه‌های بدن ازجمله سیستم تولیدمثل، اثرات مخرب داشته باشد. کاربرد گیاه ترخون در طب سنتی برای زنان باردار به‌علت احتمال سقط جنین ممنوع بوده است (Kowalchik و همکاران، ۱۹۹۸). ترخون دارای ترکیباتی است که فعالیت ضدالتهابی قوی دارند (Ayoughi و همکاران، ۲۰۱۱؛ Mbiantcha و همکاران، ۲۰۱۱). ترکیبات ایگنول، آنه‌تول و فلاونوئیدهای موجود در برگ ترخون دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قوی هستند. از آن‌جائی‌که رسیدگی جنسی تخمدان به‌عنوان یک فرایند التهابی شناخته می‌شود (Salah و Wagner، ۲۰۰۹؛ Akpantah و همکاران، ۲۰۰۵) بنابراین امکان تحلیل بافت تخمدان و تغییر در تولید هورمون‌های جنسی در اثر استفاده از ترخون دور از انتظار نمی‌باشد.

ازطرفی مشخص‌شده که فلاونوئیدهای‌موجود در عصاره ترخون، تولید اکسیدنیتریک را از طریق تاثیر بر روی ژن‌ها و آنزیم‌های تولید کننده اکسیدنیتریک، کاهش می‌دهد.اکسیدنیتریک بر روی پروسه‌های مختلفی هم‌چون تقسیم سلولی تاثیر دارد و از این‌رو کاهش آن می‌تواند سبب کاهش تعداد سلول‌ها گردد (Raghav، ۲۰۰۶). ایزوآنزیم‌ها سبب فعال نمودن تخمدان‌ها جهت تولید اکسیدنیتریک در بخش‌های مختلف می‌گردند و این فعالیت از طریق گنادوتروپین‌ها کنترل می‌شود (Khodaei، ۲۰۰۷). هم‌چنین به‌نظر می‌رسد که اکسیدنیتریک بر روی سرخرگ تخمدانی تاثیر می‌گذارد (Cussons، ۲۰۰۷). بنابراین ترخون سبب کاهش تولید اکسیدنیتریک و درنتیجه کاهش مقدار هورمون‌های گنادوتروپین که در رشد فولیکولی موثراند می‌گردد و از این رو تاثیر منفی بر تکامل جنسی و تولیدمثل می‌گذارد.

هم‌چنین برخی محققین اظهار نموده‌اند که فلاونوئیدها ترکیبات عمده‌موجود در ترخون‌هستند که‌مانع اوولاسیون در موش‌ها می‌گردند (Salah و Wagner، ۲۰۰۹؛ Akpantah و همکاران، ۲۰۰۵). همان‌طور که ذکر گردید، اوولاسیون و تکامل تخمک یک روند التهابی است و فلاونوئیدهای موجود در ترخون نیز اثر ضدالتهابی دارند (Ahmadlo و همکاران، ۲۰۱۲) و به این دلیل نیز ترخون اثر منفی در روند تکامل تخمدانی و میزان هورمون‌های جنسی در مطالعه حاضر داشت.

طی تحقیقی که به بررسی اثر عصاره ترخون بر تغییرات بافتی بافت تخمدان موش‌های ماده پرداخته شد، مشخص گردید که تعداد فولیکول‌های اولیه و جسم زرد در موش‌های دریافت‌کننده عصاره ترخون در مقایسه با تیمار شاهد به‌میزان معنی‌داری کاهش یافته است و ترخون اثراتی مضرر و آسیب زننده بر بافت تخمدان موش دارد (Ahmadlo و همکاران، ۲۰۱۲). یافته‌های این تحقیق در رابطه با موش، مشابه تحقیق حاضر در رابطه با ماهی گورامی سه خال است و تاکیدی بر تاثیر عصاره ترخون بر تحلیل بافت تخمدان و تغییر تولید هورمون‌های جنسی در ماهی گورامی سه خال است.

به‌عنوان نتیجه‌گیری نهایی می‌توان بیان داشت که با توجه به نتایج حاصله در تحقیق حاضر مشخص است که عصاره ترخون با تاثیری که بر روند تکامل جنسی ماهی گورامی سه خال دارد، خاصیت ممانعت کنندگی از فعالیت هورمون‌های جنسی دارد و از این رو است که میزان این هورمون‌ها به‌طور چشمگیر و معنی‌داری در تیمارهای دریافت‌کننده عصاره ترخون کم‌تر است. لذا افزودن این ماده جیره غذایی سبب اثرات منفی بر رشد تخمدانی شده و برای جیره غذایی مولدین مناسب نیست.

## منابع


۱. **Abbassi, F. and Matinfar, A., 2009**. Interaction of ovarian development and gondal hormons in *Epinephelus coioides* of Presian Gulf. Pajouhesh & Sazandegi. Vol. 79, pp: 72-80.

۲. **Ahmadlo, A.; Najafian, M.; Johari, H. and Kargar, H., 2012.** The Effect of Tarragon Extracton Histopathological Changes in Female Rat Ovarian Tissue. Advances in Environmental Biology. Vol. 6, pp: 2809-2814.

۳. **Akpantah, A.; Oremosu, A.; Noronha, C.; Ekanem, T. and Okanlawon, A., 2005.** Effects of Garcinia kola seed extract on ovulation, oestrous cycle andfoetal development in cyclic female sprague dawley rats. Nigerian Journal of Physiological Sciences. Vol. 20, pp: 58-62.

٤. **Ayoughi, F.; Marzegar, M.; Sahari, M.A. and Naghdibadi, H., 2011.** Chemical Compositions of Essential Oils of Artemisia dracunculus L. and Endemic Matricaria chamomilla L. and an Evaluation of their Antioxidative Effects. Journal of Agricultural Science and Technology (JAST). Vol. 13, pp: 79-88.

۵. **Cussons, A.J.; Stuckey, B.G.A. and Watts, G.F., 2007.** Cardiovascular disease in the polycystic ovary syndrome: New insights and perspectives. Atherosclerosis. Vol. 185, pp: 227-239.

٦. **Degani, G., 1993.** The effect of sexual behavior on oocyte development and steroid changes in *Trichogaster trichopterus*. Copeia. Vol. 4, pp: 1091-1096.

۷. **Evans, D.H.; Claiborne, J.B. and Currie, S., 2013.** The Physiology of Fishes. Fourth Edition. Taylor & Francis. 235 p.

۸. **Firouzbakhsh, F.; Noori, F.; Khalesi, M.K. and Jani Khalili, K., 2011.** Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 37, pp: 833-842.

۹. **Jackson, K.; Abraham, M. and Degani, G., 2005.** Cellular events in adenohypophysis of *Trichogaster trichopterus* (Pallas) during final oocyte maturation. Indian Jounnal of Fish. Vol. 52, pp: 1-13.

۱۰. **Johnson, K.; Thomas, P. and Wilson, R.R., 1998.** Seasonal cycles of gonadal development and plasma sex steroid levels in Epinephelus morio, a protogynous grouper in the eastern

Gulf of Mexico. Journal of Fish Biology. Vol. 52, pp: 502-518.

۱۱. **Khodaei, H.; Ghoreishi, S. and Hejazi, H., 2007.** The relationship between size of normal and cystic bovine ovarian follicles with follicular fluid levels of nitric oxide and estradiol. Journal of Reproduction & Infertility. Vol. 8, pp: 17-23.

۱۲. **Kowalchik, C.; Hylton, W.H. and Carr, A., 1998.** Rodale's Illustrated Encyclopedia of Herbs, Rodale Books.

۱۳. **Mbiantcha, M.; Kamanyi, A.; Teponno, R.B.; Tapondjou, A.L.; Watcho, P. and Nguelefack, T.B., 2011.** Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Extracts from the Bulbils of *Dioscorea bulbifera* L. var sativa (Dioscoreaceae) in Mice and Rats. Evidence Based Complementary and Alternative Medicine. 9 p. doi:10.1155/2011/912935.

۱٤. **Raghav, S.; Singh, H.; Dalal, P.K.; Srivastava, J.S. and Asthana, O.P., 2006.** Randomized controlled trial of standardized Bacopa monniera extract in age associated memory impairment. Indian Journal of Psychiatry. Vol. 48, pp: 238-242.

۱٥. **Sabetsarvestani, M.M.; Sharafzadeh, S.; Alizadeh, A. and Rezaeian, A.A.; 2013.** Total Phenolic Content, Antioxidant Activity and Antifungal Property in Two Partsof Garden Thyme Shoot. International Journal of Farming and Allied Sciences. Vol. 22, pp: 1017-1022.

۱٦. **Salah, A.M. and Wagner, H., 2009.** Effects of Ruellia praetermissa extract on ovulation, implantation, and the uterine endometrium of female rats. Journal of Medicinal Plants Research. Vol. 3, pp: 641-645.

۱۷. **Surburg, H. and Panten, J., 2006.** Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses. Wiley.

۱۸. **Topfer, J. and Schindler, I., 2009.** On the Type Species of Trichopodus (Teleostei: Perciformes: *Osphronemidae*). Vertebrate Zoology. Vol. 59, pp: 49-51.

۱۹. **Zeller, A. and Rychlik, M., 2007.** Impact of estragole and other odorants on the flavour of anise and tarragon. Flavour and Fragrance Journal. Vol. 22, pp: 105-113.