اثرات $LHRH\text{-}A_2$، 17 بتا استرادیول و عصاره‌ی سرشاخه هوایی مرزنجوش (*Origanum vulgare*) بر القاء باروری در ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*)

طاهره ناجی [*1]، صدیقه باقری زیاری [1]، همایون حسین‌زاده صحافی [2]

1- گروه علوم پایه، دانشکده داروسازی، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، صندوق پستی: 1941933111

2- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، صندوق پستی:141556116

تاریخ دریافت: 24 فروردین 1394 تاریخ پذیرش: 28 مرداد 1394

چکیده

مرزنجوش (*Origanum vulgare*) گیاهی از خانواده‌ی نعنائیان می‌باشد که در طب سنتی به عنوان کاهنده مشکلات قاعدگی مورد استفاده بوده است. مطالعه حاضر به مقایسه‌ی اثرات LHRH-A2، 17 بتا استرادیول و عصاره‌ی هیدروالکلی سرشاخه‌ی هوایی مرزنجوش بر بافت تخمدان ماهی گورامی سه خال نابالغ پرداخته است. بدین منظور 150 قطعه ماهی گورامی سه خال با میانگین وزنی 1±2/1 گرم مورد ارزیابی قرار گرفت. 10 ماهی در هر گروه از 12 گروه تجربی شامل 4 دوز از مرزنجوش یا 17 بتا استرادیول (10، 20، 30 و 50 میلی‌گرم بازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی) و 4 دوز LHRH-A2 (0/001، 0/002، 0/003 و 0/005 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی) و 3 تیمار شاهد شامل نرمال سالین، دارونما و اتانول مورد ازمایش قرار گرفتند. تزریقات به‌صورت عضلانی، یک‌روز درمیان و در 7 تکرار صورت پذیرفت. ساختار بافت‌شناسی تخمدان و میانگین درصد شاخص گنادی در سه نوع تیمار، اندازه‌گیری و با کنترل مقایسه شد. نتایج آماری میانگین شاخص گنادها، در سه تیمار کنترل با گروه‌های تجربی اختلاف معناداری نشان داد ($P\geq 0/05$). بررسی‌ها در 12 گروه تجربی نشان داد که در دوز 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم، عصاره‌ی مرزنجوش بعد از 17 بتا استرادیول سبب تسریع در رسیدگی اووسیت‌ها می‌گردد. نتایج بافتی و قطر اووسیت‌ها نیز تاییدی بر شاخص گنادوسوماتیک بود. یافته های این تحقیق نشان داد که عصاره‌ی مرزنجوش به صورت وابسته به دوز بلوغ اووسیت‌ها در ماهی گورامی سه خال را تحت تاثیر قرار می دهد.

کلمات کلیدی: ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*)، مرزنجوش (*Origanum vulgare*)، $LHRH\text{-}A_2$، 17 بتا استرادیول، باروری.

* عهده‌دار مکاتبات (✉)، tnaji2002@gmail.com

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1394.9.3.5.2]

مقدمه

در تمام مهره‌داران از جمله ماهی‌ها محور هیپوفیز- هیپوتالاموس- گناد نقش مهمی را در تولید مثل ایفاء می‌کند و با تاثیر بر سطوح مختلف این محور، می‌توان تخمک‌گذاری را تحت تاثیر قرار داد (Okubo *et al.*, 2008). ماهی گورامی سه خال از خانواده Anabantidae بوده که به علت شباهت بالای محور هیپوفیز- هیپوتالاموس- گناد به انسان، به عنوان یک مدل ایده‌آل در مطالعات تولید مثلی به‌کار می‌رود (Degani *et al.*, 1995). بلوغ اووسیت در ماهیان شامل 6 مرحله‌ی اووگونی، اووسیت اولیه با هسته کروماتینی، پیش‌هستکی اولیه، کورتیکال آلوئولار، ویتیلوژنز و اووسیت بالغ می‌باشد. عوامل متعددی می‌توانند بر روند بلوغ اووسیت در ماهیان اثرگذار باشند. در مطالعاتی که به منظور بررسی رشد اووسیت‌های ماهی گورامی سه خال انجام گرفت، نشان داده شد که روند بلوغ اووسیت‌ها تحت تاثیر 17 بتا استرادیول و LHRH- A_2 متفاوت می‌باشد (Anathy *et al.*, 2003).

فیتواستروژن‌ها، زینواستروژن‌های مشتق شده از گیاهان بوده که دارای ساختاری مشابه با 17 بتا استرادیول (هورمون اولیه‌ی جنسی) می‌باشند و می‌توانند نقش این هورمون را به طور ضعیف‌تری ایفاء کنند (Yildiz, 2005).

درصد حضور فیتواستروژن‌ها در گیاهان مختلف متفاوت است. امروزه تحقیقات بر روی اثر فیتواستروژن‌ها در گیاهان و مقایسه اثرات آن‌ها با استروژن در باروری حیوانات روز به روز در حال افزایش است (Mindy *et al.*, 1997). گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare*)، از جمله گیاهان خانواده‌ی نعنا، حاوی 4 فیتواستروژن به نام‌های آپی ژنین، بیوچانین، کوئرستین و لوتئولین می‌باشد. این گیاه در طب سنتی ایران و پرو به عنوان کاهش‌دهنده درد دوران قاعدگی استفاده می‌شود (Bussmann *et al.*, 2010). مطالعات نشان داد که حضور گیاه مرزنجوش در رژیم غذایی گاو، سبب افزایش شیر شده است (Tekippe *et al.*, 2011). هم‌چنین عصاره‌ی این گیاه می‌تواند سرعت روند رشد جنین موش را افزایش دهد (Benavides *et al.*, 2000). از آن‌جا که تاکنون مطالعه‌ای بر روی اثر این گیاه در باروری ماهی گورامی سه خال صورت نگرفته است، لذا در این تحقیق، به مقایسه اثرات استروژنیک بین عصاره‌ی هیدروالکلی سرشاخه هوایی گیاه مرزنجوش، LHRH- A_2 و 17 بتا استرادیول بر هورمون‌های محور هیپوفیز- هیپوتالاموس- گناد در القا باروری پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در شهریور 1392 به‌مدت یک ماه در آزمایشگاه گروه علوم پایه، دانشکده داروسازی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی صورت گرفتت. بدین‌منظور 150 قطعه ماهی گورامی سه خال نابالغ با میانگین وزنی 1±2/1 گرم و میانگین طولی 1±5/1 سانتی‌متر از شرکت ماهیران تهیه گردید. فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب، شامل دما 1±23 درجه سانتی‌گراد، pH 2±7/2 و درجه سختی 2±73 (میلی- گرم/لیترکربنات کلسیم کربنات) تنظیم گردید. پس از کلرزدایی آب آکواریوم‌ها، ماهیان در 15 گروه مجزا، هر گروه شامل10 عدد ماهی، درآکواریوم‌ها رها سازی شدند. تزریقات به‌صورت درون عضلانی و طبق جدول (1)، به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی صورت گرفت (Ng *et al.*, 1997).

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.23223545.1394.9.3.5.2]

جدول 1: تیمارهای مورد بررسی و دوزهای تزریقی به هر تیمار در ماهی گورامی سه خال

گروه تیماری	ماده تزریقی	دوز تزریقی
1	مرزنجوش	10mg/kg
2	مرزنجوش	20mg/kg
3	مرزنجوش	30mg/kg
4	مرزنجوش	50mg/kg
5	$LHRH\text{-}A_2$	0/001 mg/kg
6	$LHRH\text{-}A_2$	0/002 mg/kg
7	$LHRH\text{-}A_2$	0/003 mg/kg
8	$LHRH\text{-}A_2$	0/005mg/kg
9	17 بتا استرادیول	10mg/kg
10	17 بتا استرادیول	20mg/kg
11	17 بتا استرادیول	30mg/kg
12	17 بتا استرادیول	50mg/kg
13	کنترل 1(دست‌نخورده)	0/02 سی‌سی
14	کنترل 2 (نرمال سالین)	0/02 سی‌سی
15	کنترل 3 (اتانولی)	0/02 سی‌سی

جهت انجام تزریقات، پودرهای $LHRH\text{-}A_2$ (شرکت Ningbo Sansheng) درمحلول نمکی (0.7% NaCl) (Ahmadnezhad *et al*., 2013) و 17 بتا استرادیول (شرکت ابوریحان) در اتانول 96 درجه (Nakari, 2003) به نسبت 1 به 1 حل شده و پس از رقت‌سازی مطابق جدول (1) به ماهیان تزریق شدند. جهت آماده‌سازی عصاره‌ی مرزنجوش، سرشاخه هوایی گیاه خشک از مزارع کشت گیاه از گرگان در تیر 1392 جمع‌آوری شد. این گیاه توسط متخصصان مورد شناسایی قرار گرفته و با کد هرباریومی 1162AUPF در کتاب‌خانه هرباریومی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی موجود می‌باشد. پس از خشک‌شدن سرشاخه‌ی هوایی گیاه، عصاره‌گیری با استفاده از روش پرکولاسیون با حلال اتانول 96 درجه (Ahmed *et al*., 2002) صورت گرفت. تزریقات با سرنگ BD نیم‌میکرولیتر (شرکت Pic) به مقدار 0/02 سی‌سی، یک روز در میان و با 7 تکرار انجام شد(Ng *et al*., 1997). بعد از پایان روز بیست و هفتم، نمونه‌ها با تعداد 10 قطعه در هر تیمار، با استفاده از عصاره‌ی گل میخک بیهوش و با استفاده از ترازوی دیجیتال (با دقت0/01 گرم) و خط‌کش بیومتری (طول استاندارد) مورد بررسی قرار گرفتند. سپس جهت بررسی مطالعات بافت‌شناسی، نمونه‌ها کشته‌شده و بافت تخمدان آن‌ها خارج شد. پس از توزین تخمدان‌ها، تعدادی تخمدان

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1394.9.3.5.2]

از هر تیمار در فرمالین 10 درصد تثبیت شده و پس از انجام مراحل پاساژ بافت، برش‌گیری با میکروتوم (ضخامت 10-5 میکرومتر) و رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسین - ائوزین، در زیر میکروسکوپ نوری نیکون (مدلEclipse E100) با بزرگ‌نمایی 100 مورد مطالعه قرار گرفتند.

شاخص گنادی (GSI) براساس فرمول زیر برای ماهیان هر تیمار محاسبه گردید (Htun-Han, 1979).

$GSI = \frac{WG}{W} \times 100$ که در آن WG وزن گناد (گرم) و W وزن بدن ماهی (گرم) است.

جهت اندازه‌گیری قطر تخمک‌ها در هر تیمار از نرم‌افزار AxioVision Rel استفاده شد. در هر مرحله از بلوغ 20 فولیکول بزرگ و کوچک ماهی مورد بررسی قرار گرفت. سپس به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از شاخص گنادی، قطر اووسیت‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اختلاف مشاهده شده در تیمارهای مختلف از نرم‌افزارSPSS ، روش آماری آزمون واریانس یک طرفه وآزمون مقایسه میانگین دانکن استفاده شد.

نتایج

شاخص گنادوسوماتیک

نتایج شاخص گنادوسوماتیک 15 تیمار در جدول (2) آورده شده است. نتایج نشان داد که بین گروه‌های کنترل1 (دست نخورده)، 2 (نرمال سالین) و 3 (اتانولی) اختلاف معناداری از لحاظ GSI وجود نداشت ($P\geq0/05$). در صورتی که بین تیمارهای 17 بتا استرادیول، $LHRH\text{-}A_2$ و مرزنجوش اختلاف معناداری وجود داشت ($P\leq0/05$). در نتایج حاصل از مقایسه تیمارهای مرزنجوش و 17 بتا استرادیول (دوزهای 10و 20 و 30 میلی‌گرم برکیلوگرم) با $LHRH\text{-}A_2$ (در دوزهای 0/001، 002 /0 و 0/003 میلی‌گرم برکیلوگرم) نشان داده شد که بین تیمارهای مرزنجوش و $LHRH\text{-}A_2$ از نظر GSI اختلاف معناداری وجود نداشت ($P\geq0/05$)، اما بین تیمارهای 17 بتا استرادیول با مرزنجوش در هر سه دوز اختلاف معناداری وجود داشت ($P\leq0/05$). هم‌چنین در نتایج GSI در حداکثر دوز سه تیمار اختلاف معناداری وجود داشت، به گونه‌ای که روند بلوغ اووسیت‌ها در17 بتا استرادیول بیش‌تر از مرزنجوش بوده و مرزنجوش از $LHRH\text{-}A_2$ بیش‌تر بود.

جدول2: میانگین رشد شاخص گنادی ماهی گورامی سه خال در تیمارهای مختلف

شماره	نام تیمار	میانگین شاخص گنادی %
1	مرزنجوش با دوز 10mg/kg	$1/10^{B}$
2	مرزنجوش با دوز 20mg/kg	$1/39^{B}$
3	مرزنجوش با دوز 30mg/kg	$1/46^{B}$
4	مرزنجوش با دوز 50mg/kg	$3/48^{a}$
5	$LHRH\text{-}A_2$ با دوز 0./001mg/kg	$0/90^{B}$
6	$LHRH\text{-}A_2$ با دوز 0./002mg/kg	$1/23^{B}$
7	$LHRH\text{-}A_2$ با دوز 0./003mg/kg	$1/38^{B}$
8	$LHRH\text{-}A_2$ با دوز 0./005mg/kg	$2/58^{a}$
9	17 بتا استرادیول با دوز 10mg/kg	$1/21^{B}$

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1394.9.3.5.2]

شماره	نام تیمار	میانگین شاخص گنادی %
10	17 بتا استرادیول با دوز 20mg/kg	$2/38^{B}$
11	17 بتا استرادیول با دوز 30mg/kg	$2/91^{B}$
12	17 بتا استرادیول با دوز 50mg/kg	$4/52^{a}$
13	کنترل 1(دست‌نخورده)	$0/87^{A}$
14	کنترل 2 (نرمال سالین)	$0/97^{A}$
15	کنترل 3 (اتانولی)	$0/82^{A}$

حروف کوچک اختلاف معنی دار ($P<0/05$) را در بین گروه های تحت تیمار و شاهد نشان می دهد.

قطر تخمک

سایز تخمدان در مراحل مختلف جنسی تغییر می‌کند. به‌منظور بررسی روند بلوغ در اووسیت‌ها، قطر تخمک در تیمارهای مختلف با یک‌دیگر در شکل(2) مقایسه شده است. آنالیز آماری میانگین قطر تخمک‌ها در کنترل‌های 1، 2 و 3 در مرحله‌ی اووگونی اختلاف معناداری نشان نمی‌دهد. میانگین قطر تخمک‌ها بین تیمارهای مرزنجوش و 17 بتا استرادیول (در دوزهای 10 و20 میلی‌گرم بر کیلوگرم) با تیمارهای LHRH-A_2 (در دوزهای 0/001 و0/002 میلی‌گرم بر کیلوگرم) اختلاف معناداری نشان نمی‌دهد. هم‌چنین بین تیمار مرزنجوش در دوز 30 میلی‌گرم بر کیلوگرم با تیمار LHRH-A_2 در دوز 0/003 میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معناداری وجود ندارد، در حالی که بین تیمار مرزنجوش و 17 بتا استرادیول در دوز 30 میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معناداری وجود دارد. علاوه بر این، آنالیز آماری میانگین قطر تخمک‌ها در تیمارهای مرزنجوش، 17 بتا استرادیول و LHRH-A_2 در حداکثر دوز اختلاف معناداری را نشان می‌دهد. کم‌ترین میانگین قطر تخمک مربوط به مرحله‌ی اووگونی در تیمارهای کنترل و بیش‌ترین آن مربوط به مرحله‌ی تکوین جنسی در دوز 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمار17 بتا استرادیول است.

جدول3: میانگین قطر تخمک در ماهی گورامی سه خال بعد از تزریق

شماره	نام تیمار	میانگین قطر تخمک بعد از تزریق(µm)
1	مرزنجوش با دوز 10mg/kg	$44/37^{B}$
2	مرزنجوش با دوز 20mg/kg	$67/50^{B}$
3	مرزنجوش با دوز 30mg/kg	$104/97^{B}$
4	مرزنجوش با دوز 50mg/kg	$200/23^{a}$
5	LHRH-A_2 با دوز 0./001mg/kg	$48/74^{B}$
6	LHRH-A_2 با دوز 0./002mg/kg	$56/31^{B}$
7	LHRH-A_2 با دوز 0./003mg/kg	$95/81^{B}$
8	LHRH-A_2 با دوز 0./005mg/kg	$166/15^{a}$
9	17 بتا استرادیول با دوز 10mg/kg	$65/32^{B}$

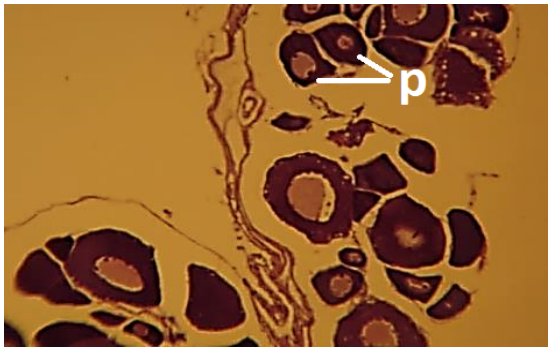
[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1394.9.3.5.2]

شماره	نام تیمار	میانگین قطر تخمک بعد از تزریق(µm)
10	17 بتا استرادیول با دوز 20mg/kg	89/6^{B}
11	17 بتا استرادیول با دوز 30mg/kg	175/25^{B}
12	17 بتا استرادیول با دوز 50mg/kg	268/86^{a}
13	کنترل 1(دست‌نخورده)	38/52^{A}
14	کنترل 2 (نرمال سالین)	38/46^{A}
15	کنترل 3 (اتانولی)	38/14^{A}

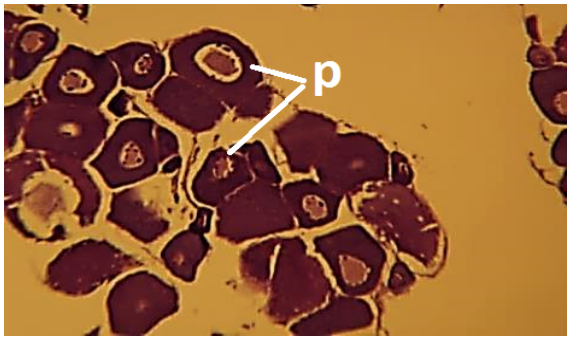
حروف کوچک اختلاف معنی دار (P<0/05) را در بین گروه های تحت تیمار و شاهد نشان می دهد.

بافت‌شناسی تخمدان با میکروسکوپ نوری

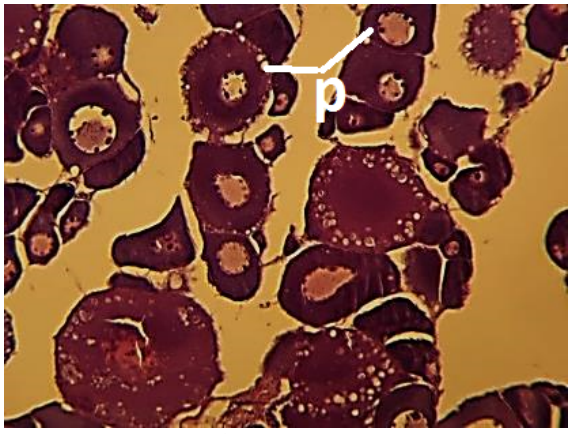
نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که هر سه تیمار کنترل، اغلب اووسیت‌ها نابالغ بوده و در مرحله‌ی پیش‌هستکی اولیه قرار دارند (شکل‌های 1، 2 و3).



شکل 1: مقطعی از بافت تخمدان ماهی کنترل دست‌نخورده، فاز غالب اووسیت‌ها شامل مرحله پیش‌هستکی اولیه(P)، (H&E)، بزرگنمایی100 ×



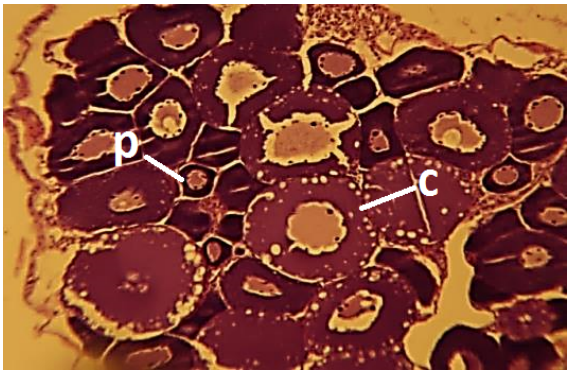
شکل 2: مقطعی از بافت تخمدان ماهی گروه نرمال سالین، فاز غالب اووسیت‌ها شامل مرحله پیش‌هستکی اولیه(P)، (H&E)، بزرگنمایی100 ×



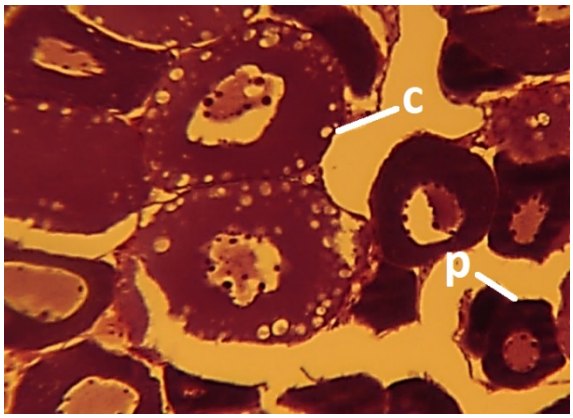
شکل 3: مقطعی از بافت تخمدان ماهیان گروه اتانولی، فاز غالب اووسیت‌ها شامل مرحله پیش‌هستکی اولیه(P)، (H&E) بزرگنمایی100 ×.

در مقاطع تخمدانی مرزنجوش (دوز10 میلی‌گرم بر کیلوگرم) (شکل 4) و $LHRH\text{-}A_2$ (دوز 0/001 میلی‌گرم بر کیلوگرم) (شکل5) اغلب اووسیت‌ها در مرحله پیش‌هستکی و تعداد کمی در مرحله کورتیکوآلوئولار قرار داشتند، اما در تیمار 17 بتا استرادیول (دوز 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم) (شکل6) تعداد اووسیت‌ها در مرحله‌ی کورتیکوآلوئولار تقریبا برابر با تعداد اووسیت‌ها در مرحله‌ی پیش‌هستکی اولیه است.

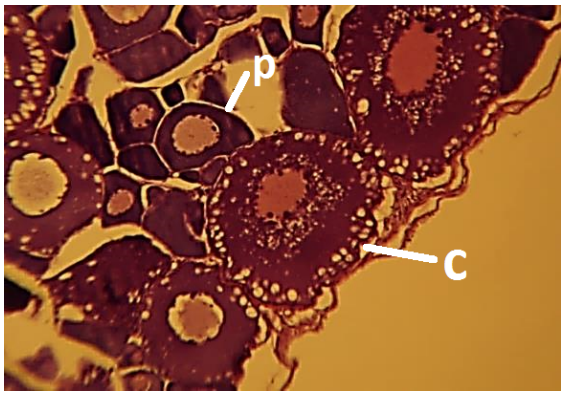
[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1394.9.3.5.2]



شکل4: مقطعی از بافت تخمدان ماهی گورامی سه خال. مقطعی از بافت تخمدان ماهی مرزنجوش با دوز 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم، فاز غالب اووسیت‌ها شامل مرحله پیش‌هستکی اولیه (P)، حضور اووسیت‌هایی در مرحله کورتیکال(c)، (H&E)، بزرگنمایی100 ×

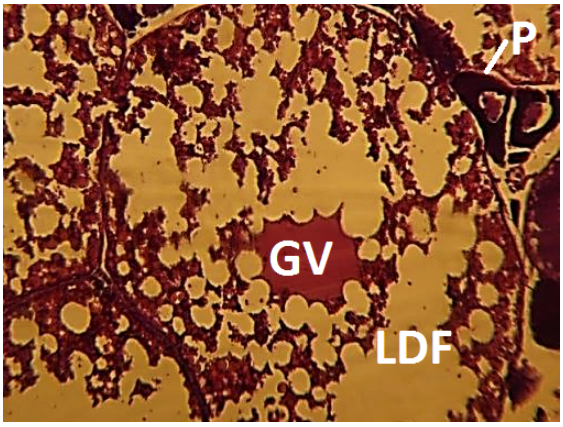


شکل5: مقطعی از بافت تخمدان ماهی LHRH-A_2 با دوز 0/001 میلی‌گرم بر کیلوگرم، فاز غالب اووسیت‌ها شامل مرحله پیش-هستکی اولیه (P)، حضور اووسیت‌هایی در مرحله کورتیکال (c)، (H&E)، بزرگنمایی100 ×



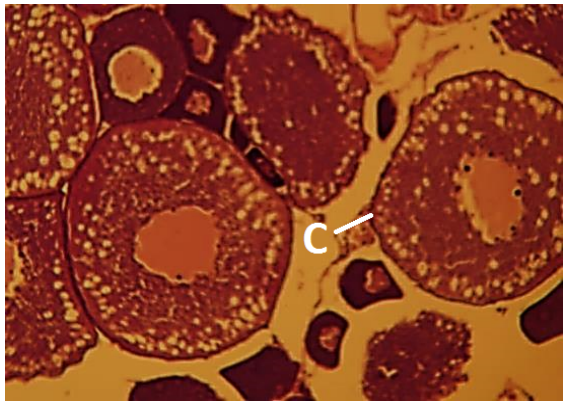
شکل6: مقطعی از بافت تخمدان ماهی 17 بتا استرادیول با دوز 10 میلی‌گرم بر کیلوگرم، فاز غالب اووسیت‌ها شامل مرحله پیش-هستکی اولیه (P)، حضور اووسیت‌هایی در مرحله کورتیکال (c)، (H&E)، بزرگنمایی100 ×

در تیمار مرزنجوش در دوز 30 میلی‌گرم، حرکت وزیکول زایا به سمت قطب جانوری و اتصال ذرات چربی به یک‌دیگر و گاهی حضور اووسیت‌هایی در مرحله‌ی پیش‌هستکی اولیه به چشم می‌خورد (شکل7) اما در دوز 0/003 میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمار LHRH-A_2 همه اووسیت‌ها در مرحله پایانی کورتیکوآلوئولار به سر می‌برند (شکل8). در تیمار 17 بتا استرادیول با دوز 30 میلی‌گرم بر کیلوگرم شروع حرکت وزیکول زایا به سمت قطب جانوری و اتصال ذرات چربی به یک‌دیگر نشان داده شده است (شکل9).

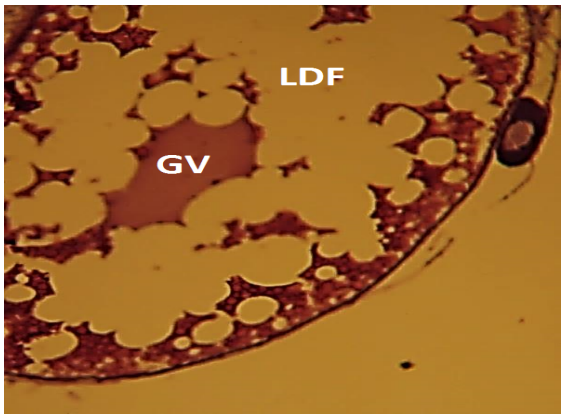


شکل 7: مقطعی از بافت تخمدان ماهی مرزنجوش با دوز 30 میلی‌گرم بر کیلوگرم، شروع حرکت وزیکول زایا (GV) به سمت قطب جانوری، اتصال ذرات چربی به یک‌دیگر (LDF)، حضور اووسیت‌هایی در مرحله پیش‌هستکی اولیه (P)، (H&E)، بزرگنمایی100 ×

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1394.9.3.5.2]

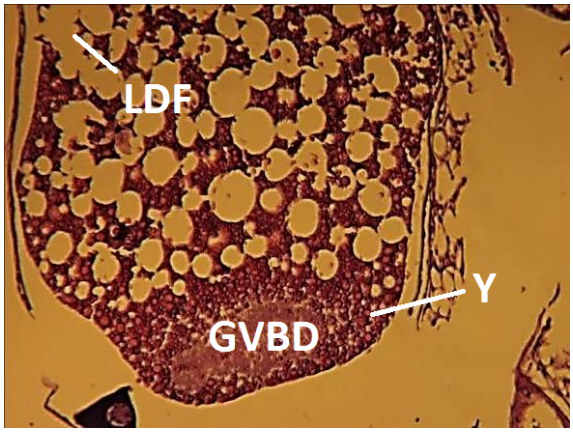


شکل 8: مقطعی از بافت تخمدان ماهی LHRH-A_2 با دوز 0/003 میلی‌گرم بر کیلوگرم، حضور غالب اووسیت‌هایی در مرحله کورتیکال (c)، (H&E)، بزرگنمایی 100 ×

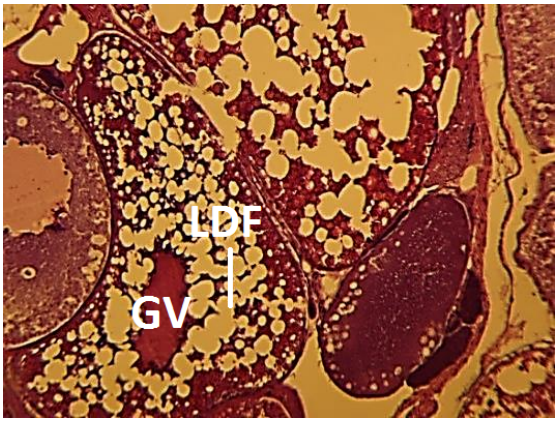


شکل 9: مقطعی از بافت تخمدان ماهی 17 بتا استرادیول با دوز 30 میلی‌گرم بر کیلوگرم، شروع حرکت وزیکول زایا (GV) به سمت قطب جانوری، اتصال ذرات چربی به یکدیگر (LDF)، (H&E)، بزرگنمایی 100 ×

مقایسه‌ی مقاطع بافتی تخمدان مرزنجوش، 17بتا استرادیول (دوز 50 میلی‌گرم برکیلوگرم) و LHRH-A_2 (دوز 0/005 میلی‌گرم بر کیلوگرم) نشان می‌دهد که اووسیت در تیمار 17 بتا استرادیول به حداکثر رشد خود رسیده و هسته‌ی سلول کاملا به طرف سیتوپلاسم مهاجرت کرده است و شکست وزیکول ژرمینال (GVBD) ظاهر شده است (شکل10)، درحالی که در تیمار مرزنجوش مهاجرت هسته به دیواره‌ی سلولی نرسیده (شکل11) و در تیمار LHRH-A_2 حرکت وزیکول زایا به سمت قطب جانوری و اتصال ذرات چربی به یک‌دیگر به چشم می‌خورد (شکل12).

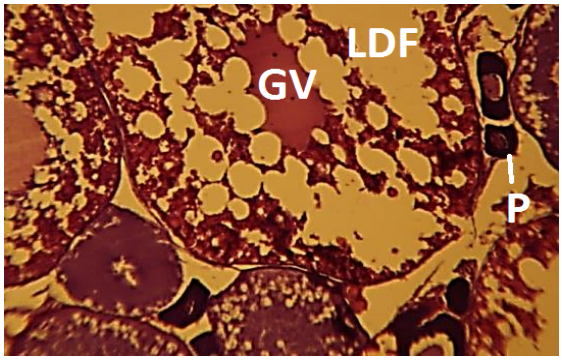


شکل 10: مقطعی از بافت تخمدان ماهی 17 بتا استرادیول با دوز 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم، حرکت وزیکول زایا (GVBD) به سمت قطب جانوری، اتصال ذرات چربی به یکدیگر (LDF)، ذرات زرده (Y)، (H&E)، بزرگنمایی 100 ×



شکل 11: مقطعی از بافت تخمدان ماهی گورامی سه خال. مقطعی از بافت تخمدان ماهی مرزنجوش با دوز 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم، اتمام حرکت وزیکول زایا به سمت قطب جانوری، (H&E)، بزرگنمایی 100 ×

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1394.9.3.5.2]



شکل 12: مقطعی از بافت تخمدان ماهی LHRH-A_2 با دوز 0/005 میلی‌گرم بر کیلوگرم، حرکت وزیکول زایا (GV) به سمت قطب جانوری، اتصال ذرات چربی به یکدیگر (LDF)، حضور اووسیت‌هایی در مرحله پیش‌هستکی اولیه (P)، (H&E)، بزرگنمایی 100 ×

بحث

شاخص گنادوسوماتیک و قطر اووسیت‌ها

از مشخصه‌های بلوغ تخمک GSI است. در مقایسه‌ی نتایج حاصل از GSI، بین گروه‌های کنترل1 (دست‌نخورده)، کنترل 2 (نرمال سالین) و کنترل 3 از لحاظ آماری اختلاف معناداری وجود ندارد ($P\geq0/05$). در حقیقت نرمال سالین و اتانول بلوغ اووسیت‌ها را تحت‌تاثیر قرار نمی‌دهند (Ahmadnezhad *et al.*, 2013). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که GSI در 12 گروه تجربی بالاتر از گروه‌های کنترل قرار دارد ($P\leq0/05$). علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهد که در تیمارهای مرزنجوش، 17 بتا استرادیول و LHRH-A_2 با افزایش دوز، رشد و بلوغ اووسیت‌ها افزایش می‌یابد. آنالیز آماری نتایج GSI بین تیمارهای 17 بتا استرادیول و مرزنجوش(50 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و LHRH-A_2 (0/005 میلی‌گرم بر کیلوگرم) اختلاف معناداری را نشان می‌دهد ($P\leq0/05$). بیش‌ترین رشد و بلوغ اووسیت‌ها در تیمار 17 بتا استرادیول مشاهده می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که 17 بتا استرادیول نقش مهمی را در بلوغ اووسیت‌ها در ماهی گورامی سه خال بازی می‌کند (Degani *et al.*, 2004). در مقایسه‌ی نتایج بین مرزنجوش و LHRH-A_2 در حداکثر دوز مشخص شد که مرزنجوش تاثیر قابل توجهی در رشد و بلوغ اووسیت‌ها داشته است ($P\leq0/05$). در مطالعاتی که بر روی ماهی قزل آلای رنگین کمان (Van Der Kraak *et al.*, 1984) و ماهی گورامی سه خال (Degani *et al.*, 1995) انجام گرفت، نشان داده شد که LHRH-A_2 می‌تواند با تاثیر بر سلول‌های گنادوتروف در هیپوفیز، بلوغ اووسیت‌ها را تحت‌تاثیر قرار دهد. در طی بلوغ تخمک، قطر اووسیت‌های هر مرحله نسبت به مرحله‌ی قبل افزایش می‌یابد (Anathy *et al.*, 2003). اووسیت‌های بالغ تحت درمان با 17 بتا استرادیول دارای قطر 268/86 میکرومتر و اووسیت‌های تحت درمان با LHRH-A_2 که در مرحله ی ویتیلوژنز به سر می‌برند، دارای قطر 166/15 میکرومتر بودند. این در حالی است که اووسیت‌های تحت درمان با مرزنجوش، در مرحله‌ی بین ویتلوژنز و بلوغ نهایی، دارای قطر 200/23میکرومتر بودند.

بافت‌شناسی تخمدان

مراحل بلوغ اووسیت‌ها در ماهی گورامی سه خال مشابه با سایر مهره‌داران است (Degani *et al.*, 1992). بلوغ نهایی اووسیت با GVBD مشخص می‌شود (Patino *et al.*, 1990a, b). نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که در گروه‌های کنترل، اووسیت‌ها در مرحله‌ی پیش‌هستکی اولیه به سر می‌برند. در اووسیت ماهیان تحت تیمار با LHRH-A_2 در دوز 0/005 میلی‌گرم بر کیلوگرم برخی از اووسیت‌ها در مرحله ویتیلوژنز به سر می‌برند اما هنوز تعدادی از آن‌ها در

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1394.9.3.5.2]

مرحله‌ی پیش‌هستکی اولیه قرار دارند. در مطالعاتی که توسط Degani و همکاران در سال 2004 بر روی ماهی گورامی سه خال انجام گرفت، نشان داده شد که آنالوگ‌های LHRH می توانند بلوغ برخی از اووسیت‌ها را تا مرحله‌ی ویتیلوژنز پیش ببرند (Degani *et al.*, 2004). در ماهیان تحت تیمار با مرزنجوش در دوز 50 میلی گرم بر کیلوگرم، اووسیت‌ها بین مرحله‌ی و تیلوژنز و بلوغ نهایی بوده‌اند. مطالعاتی که Britt و همکاران در سال 2002 انجام دادند، نشان داده شد که فیتواستروژن‌ها می‌توانند همانند استروژن‌ها نقش مهمی را در تولید مثل داشته باشند (Britt *et al.*, 2004). در تیمار 17 بتا استرادیول وزیکول ژرمینال کاملا در حاشیه‌ی تخمک قرار گرفته و GVBD ظاهر شد. در مطالعات بر روی مکمل 17 بتا استرادیول بر بلوغ نهایی اووسیت در ماهی گورامی سه خال (Degani *et al.*, 1992) نیز بلوغ نهایی اووسیت‌ها همراه با حضور GVBD بود که با نتایج به دست آمده در این آزمایش مطابقت دارد.

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، می‌توان نتیجه گرفت که گیاه مرزنجوش در مقایسه با LHRH-A_2 توانسته اثر بیش‌تری را بر روی باروری ماهی گورامی سه خال داشته باشد و در عین حال اثرات آن از ترکیب 17بتا استرادیول کم‌تر بوده است. علت این امر نیز می‌تواند به علت حضور فیتو استروژن موجود در این گیاه باشد که می‌توانند همانند هورمون اولیه‌ی جنسی بر سطوح مختلفی از محور هیپوفیز-هیپوتالاموس-گناد اثر بگذارند.

سپاسگزاری

در اینجا بر خود لازم می‌دانیم که از زحمات تمام کسانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری نماییم.

منابع

1. Ahmadnezhad, M., Oryan, S.H., Hosseinzadeh Sahafi, H., Khara, H., 2013. Effect of Synthetic Luteinizing Hormone – Releasing Hormone (LHRH-A_2) Plus Pimozide and Chlorpromazine on Ovarian Development and Levels of Gonad Steroid Hormones in Female Kutum *Rutilus frisii kutum*. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, Vol. 13, pp. 95-100.
2. Ahmed, B., Bawa, S., Siddiqui, A.B., Alam, T., Alam, S.A., 2002. Components from seeds of *Cichorium intybus* Linn. Indian journal Chemistry, Section b, 41B, 2701–2705.
3. Anathy, V., Kirankumar, S., Pandian, T.J., 2003. Enhanced expression of beta-thymosin mRNA in the ovary of GnRH analog or 17beta –estradiol treated paradise fish, Macropodus opercularis. Comparative Biochemistry_and Physiology - Part A, 134(3), 639-45.
4. Benavides, V., Trujillo, G., D'Arrigo, G., Paredes, U., Pino, J., 2000. Evaluación toxicológica preliminar de ruta graveolens, *Origanun vulgare* y persea americana sobre embriones preimplantacionales de ratón. Journal of Revista Peruana de Biología, Vol. 7(1), pp. 87-89.
5. Britt, K.L., *et al.*, 2002. Estrogen regulates development of the somatic cell phenotype in the eutherian ovary. Federation of American Societies for Experimental Biology Journal, 16(11), 1389-1397.
6. Bussmann, R.W., Glenn, A., 2010. Medicinal plants used in Northern Peru for reproductive problems and female health. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 6(1), 30-42.
7. Degani, G., Boker, R., 1992. Vitellogenesis level and the induction of maturation in the ovary of the blue gourami *Trichogaster trichopterus* (Anabantidae, Pallas 1770). Journal of Experimental Zoology, 263, 330-337.
8. Degani, G., Jackson, K., Marmelstein, G., 1995. The effect of LHRH analogue on sex steroid profiles in female *Trichogaster trichopterus* (Anabantidae, Pallas). Journal of aquaculture in the tropics, 10, 297-307.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1394.9.3.5.2]

9. Degani, G., Jackson, K., Goldberg, D., 2004. Transcription of FSH-β, LH-β and growth hormone in female *Truchogaster trichopterus* (PALLAS 1770) treat with GnRH analog. VI International Congress on the Biology of Fish, the Molecular Basis of Environmental Adaptation, Manaus Brazil.
10. Htun-Han, C., 1979. The reproduction biology of the Dab *Limnda limnda* in the North Sea.Gonadosomatic index, Hepatosomatic index & condition factor. Journal of Fish Biology, 1, 369-378.
11. Kurzer, M.S., Xu, X., 1997. Dietary Phytoestrogens. Annual Review of Nutrition, 17, 353-381.
12. Nakari, T., Erkomaa, K., 2003. Effects of phytosterols on zebrafish reproduction in ultigeneration test. Environmental Pollution, 123(2), 267–273.
13. Ng, N.K., Tsi, D., Muro, A.D., 1997.Induced final maturation and ovulation in small anabantoid teleost, the Dawrf gourami (*Colisa lalia*) the modulatory effects of monoaminergic and opioid drugs on the responsiveness to LHRHa. Aquarium Science and Conversation, 107, 199-215.
14. Okubo, K., Nagahama, Y., 2008. Structural and functional evolution of gonadotropin-releasing hormone in vertebrates. Acta Physiologica (Oxford), 193, 3–15.
15. Patino, R., Thomas, P., 1990a. Induction of maturation of Atlantic croaker oocytes by 17a, 20p, 21-trihydroxy-4-pregnen- 3-one in vitro: Consideration of some biological and experimental variables. Journal of Experimental Zoology, Vol. 225, pp. 97-109.
16. Patino, R., Thomas, P., 1990b. Effect of gonadotropin on avian intra follicular processes during the development of oocytes maturational competence in Teleost's, the Atlantic croaker: Evidence for two distinct stages of gonadotropic control of final oocytes maturation. Biology of Reproduction, 43, 818-827.
17. Tekippe, J.A., Hristov, A.N., Heyler, K.S., Cassidy, T.W., Zheljazkov, V.D., Ferreira, J.F., Karnati, S.K., Varga, G.A., 2011. Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare L.* leaves in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 94(10), 5065-79.
18. Van Der Kraak, G., Dye, H.M., Donaldson, E.M., 1984. Effects of LH-RH and Des-Gly10 [D-Ala6] LH-RH-Ethyl amide on Plasma Sex Steroid Profiles in Adult Female Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). General and Comparative Endocrinology, 55, 36-45.
19. Yildiz, F., 2005. Phytoestrogens in Functional Foods. Taylor and Francis Ltd, 1, 3–5, 210–211.

[Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.23223545.1394.9.3.5.2]