

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

- رضا چنگیزی*: دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی بابل، ایران
- زهرا غیاثوند: گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد آزادشهر، 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

تاریخ دریافت: مرداد 1395 تاریخ پذیرش: آبان 1395

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثر عصاره آبی گیاه ترخون (*Artemisia dracunculus*) بر روی تغییرات بافت‌شناسی تخمدان و سطوح هورمون‌های 17-بتا استرادیول و 11-کتوتستوسترون در ماهی گورامی سه خال (*Trichopodus trichopterus*)، انجام شد. در این تحقیق تعداد 120 عدد ماهی گورامی در 4 گروه (شامل یک گروه شاهد و 3 گروه تیمار و هر یک با سه تکرار) به مدت 60 روز، با جیره حاوی مقادیر مختلف عصاره گیاه ترخون (به میزان 0، 500، 1000 و 2000 میلی‌گرم در ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تغذیه شدند. سپس از ماهیان خونگیری شده و میزان هورمون‌های جنسی سرم خون (17-بتا استرادیول و 11-کتوتستوسترون) اندازه گیری شد. همچنین جهت انجام مطالعات بافت‌شناسی، از بافت تخمدان ماهیان نمونه‌برداری شد. نتایج نشان داد که میزان هورمون‌های کتوتستوسترون و 17-بتا استرادیول در همه تیمارها اختلاف معنی‌داری با هم داشته و بیش‌ترین آن‌ها در تیمار شاهد و کم‌ترین میزان هورمون در تیمار 3 مشاهده شد ($p < 0/05$). 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

مقدمه

آن (آن) است. دیگر ترکیبات اسانس شامل آلفایی نن، بتایی نن، کامفن، لیمونن، سیس و ترانس اوسی من، آلفا فلاندرن، لینالول، اسیدبوتیریک، دلتا 4 کارن، ژرانیول و اوژنول می‌باشد (Zeller و Rychlik، 2007). گورامی‌ها ماهیانی پرتوباله از راسته سوفماهی‌شکلان (Perciform) و از خانواده Osphronemidae هستند (Topfer و Schindler، 2009). گورامی سه خال (*Trichopodus trichopterus*) بومی هندوستان، شبه جزیره ملای و هندوچین است اما این ماهی امروزه به‌عنوان یکی از ماهیان زینتی در اغلب آکواریوم‌های دنیا از جمله ایران، یافت می‌شود (Topfer و Schindler، 2009). 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، 2009). گورامی سه خال یک ماهی چندبار تخم‌ریزی کننده و

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 بوته‌ها برگ‌های باریک و نوک‌تیز و به‌رنگ سبز تیره که برگ‌های قاعده ساقه گیاه دارای سه لوب است. ترخون یک گیاه قدیمی چند ساله است که ارتفاع آن ممکن است به 60 سانتی‌متر و بیش‌تر نیز برسد. گیاه ترخون از خانواده گل آفتاب‌گردان است مزه گیاه تازه کمی تند و سوزاننده است (Surburg و Panten، 2006). ترخون تازه تا 3% اسانس دارد که حاوی 60 تا 70% متیل کاپیکول (استراگول) و مقداری پارامتوکسی سینامیک آلدهید (ماده تلخ



زیست‌سنجی: وزن ماهیان با ترازویی با دقت 0/01 گرم قبل از شروع آزمایش و در طول دوره نیز هر 15 روز یکبار اندازه‌گیری شد. جهت زیست‌سنجی ابتدا ماهیان هر مخزن به وسیله محلول اوژنول (عصاره گل میخک) به میزان 0/5 میلی‌لیتر در یک لیتر آب بی‌هوش شده، سپس توسط پارچه تنظیف، خشک و زیست‌سنجی گردیدند (Firouzbaksh، 2011).

جدول 1: معرفی جیره غذایی گروه‌های شاهد و تیمار

تیمار	ترکیبات
شاهد	غذای پایه
تیمار 1	غذای پایه + عصاره ترخون (500 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن ماهی)
تیمار 2	غذای پایه + عصاره ترخون (1000 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن ماهی)
تیمار 3	غذای پایه + عصاره ترخون (2000 میلی‌گرم بر کیلوگرم 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 به وسیله تانک پارافین از این نمونه‌های آماده تهیه گردید و پس از انجام پروسه‌های رایج بافت‌شناسی برش‌هایی به ضخامت 5 میکرون توسط دستگاه میکروتوم تهیه و با روش هماتوکسیلین و ائوزین (H & E) رنگ-آمیزی شد و زیر میکروسکوپ نوری ارزیابی گردید (Johnson و همکاران، 1998).

تعیین میزان هورمون‌های جنسی: جهت تعیین هورمون‌های جنسی ابتدا از ماهیان در آخرین روز خونگیری شد. بدین منظور متعاقب بی‌هوش نمودن و زیست‌سنجی ماهیان، به کمک روش قطع ساقه دم از ماهیان خونگیری شد و توسط دستگاه سانتریفیوژ با دور 3000 بار در دقیقه و به مدت 5 دقیقه، سانتریفیوژ گردید تا سرم خون تهیه گردد. نمونه‌های سرم تا زمان انجام آزمایش در فریزر 20- درجه قرار گرفت.

مطالعه مقادیر هورمون‌های استروئیدی ماهیان پس از رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای محیط به روش Radio Immune Assay و با استفاده از دستگاه گاما کانتر تمام اتوماتیک LKB و توسط کیت‌های هورمونی انجام شد. اندازه‌گیری مقادیر هورمون 17-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، 2013).

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

نتایج

نتایج مربوط به هورمون‌شناسی نشان داده است که میزان هورمون‌های 11-کتوتستوسترون و 17-بتااسترادیول در همه

وابسته به جنس نر است و تخمدان‌های ماهیان ماده نیز دارای تکامل غیرهم‌زمان هستند (Degani، 1993). تکامل تخمدانی این ماهی در سه ماهگی آغاز می‌شود و زرده‌سازی نیز پس از 5 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 به وسیله تراکم گیاهان، اثری مثبت بر ساختن آشیانه دارد و در شرایط تاریکی، بیش‌تر از شرایط روشنایی تخم‌ریزی می‌کنند (Jackson و همکاران، 2009). 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 11-کتوتستوسترون اشاره نمود. از مهم‌ترین هورمون‌های پروژسترونی می‌توان از پروژسترون و تراپول نام برد و از هورمون‌های استروژنی که بیش‌ترین تأثیر را در رسیدگی دارند، می‌توان از استرون و استرادیول (E2) نام برد (Abbasi و Matinfat، 2009). طی این تحقیق، با توجه به کمبود اطلاعات در رابطه با تأثیر ترخون بر آبزیان، اثر کاربرد عصاره ترخون در جیره غذایی بر تغییرات هورمون‌های جنسی و بافت‌شناسی تخمدان ماهی گورامی سه‌خال مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ماهی گورامی سه‌خال به اندازه 2 سانتی‌متر از شرکت ماهیران خریداری و عصاره ترخون نیز به شیوه عصاره‌گیری آبی با استفاده از دستگاه GCmass تهیه شد (Sabetsarvestani و همکاران، 2013). در این تحقیق تعداد 120 عدد ماهی گورامی در 4 گروه (شامل یک گروه شاهد و 3 گروه تیمار و هر یک با سه تکرار) به مدت 60 روز، با جیره حاوی مقادیر مختلف عصاره گیاه ترخون (به میزان 0، 500، 1000 و 2000 میلی‌گرم در ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تغذیه شدند (جدول 1). این تحقیق در کارگاه ماهیان آکواریومی آلفا در شهر تهران و در سال 1394 صورت پذیرفت.

شرایط نگهداری ماهی: غذایی به صورت روزانه در 4 وعده و غذایی اولیه بر حسب 3 تا 4 درصد وزن توده زنده انجام شد و به تدریج با بررسی وضعیت آکواریوم‌ها و میزان غذای خورده شده و خورده نشده، عمل غذایی در حد سیری صورت گرفت. برای تهیه جیره پایه از ترکیب غذای پایه ماهیان زینتی (41% پروتئین خام، 5% فیبر، 6% چربی، 12% رطوبت و 8% خاکستر) استفاده شده و براساس تیمار مورد نظر نسبت به افزودن عصاره ترخون اقدام گردید. جهت سیفون کردن، هر روز به میزان 10% حجم آب مخزن برداشت شد که جهت جبران آن به همین مقدار آب مانده کلرزدايي شده اضافه شد. در طول دوره 60 روزه آزمایش میزان دما، اکسیژن و pH به صورت روزانه به ترتیب با استفاده از دماسنج، اکسیژن متر و pH متر اندازه‌گیری گردید که در کل دوره آزمایش، میزان دمای آب 29 الی 30 درجه سانتی‌گراد، اکسیژن 8 الی 9 میلی‌گرم در لیتر pH معادل 7/5 تا 8/2، آمونیاک کمتر از 0/25 میلی‌گرم بر لیتر و نیترات کمتر از 12/5 میلی‌گرم بر لیتر بوده است. خونگیری و تهیه نمونه بافتی در پایان دوره صورت پذیرفت.

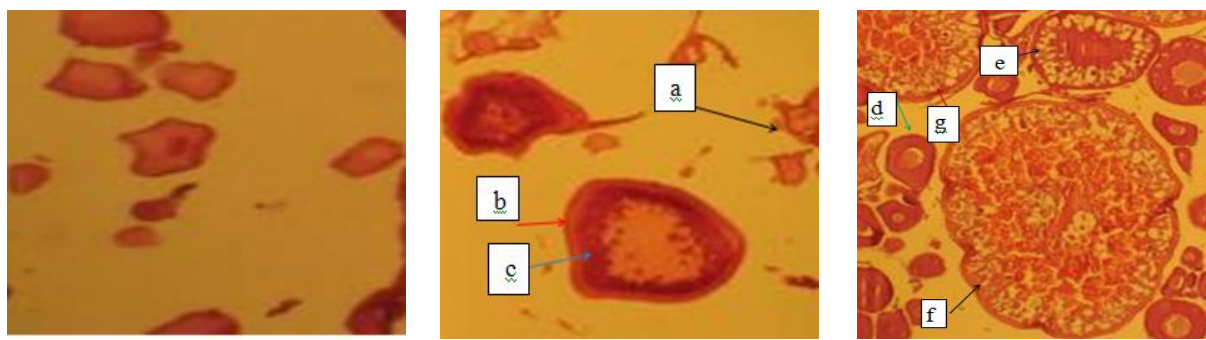
تیمارها اختلاف معنی‌داری با هم داشته‌اند و بیش‌ترین آن‌ها در تیمار شاهد و کم‌ترین میزان هورمون در تیمار 3 که ماهیان این تیمار، بیش‌ترین میزان عصاره ترخون را دریافت نموده بودند، مشاهده شد ($p < 0/05$) (جدول 2). نتایج بافت‌شناسی (شکل‌های الف، ب و ج) نیز نشان‌دهنده تأثیر منفی عصاره ترخون بر بافت تخمدان ماهی

گورامی سه خال بود به طوری که تصاویر مقاطع بافت‌شناسی تخمدان ماهیان تیمارهای مختلف (شکل 1) نشان داد که ماهیان تیمار شاهد دارای تخمدان سالم هستند اما ماهیان تیمارهای استفاده نموده از عصاره ترخون، عدم تکامل را نشان می‌دهند.

جدول 2: 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 0)	عصاره ترخون (میلی گرم بر کیلوگرم 500)	عصاره ترخون (میلی گرم بر کیلوگرم 1000)	عصاره ترخون (میلی گرم بر کیلوگرم 2000)
11- کتو تستوسترون	1/16±0/05 ^d	0/90±0/005 ^c	0/51±0/01 ^b	0/15±0/01 ^a
17-بتا استرادیول	2/03±0/05 ^d	1/0±0/0 ^c	0/50±0/00 ^b	0/12±0/01 ^a

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



شکل 1: مقطع بافتی تهیه شده از تخمدان ماهی گورامی سه خال در تیمارهای مختلف (الف) تیمار شاهد: بزرگنمایی 10 X، (d) اووسیت اولیه، (e) کورتیکال آلونولوس، (f) مرحله زردسازی، (g) اووسیت بالغ. (ب) تیمار 1: بزرگنمایی 10 X، رنگ‌آمیزی H&E. (a) آتروفی و تحلیل فولیکول‌ها، (b) ضخیم شدن زونا رادیاتا، (c) ضخیم شدن پوشش زرده. (ج) تیمار 2: بزرگنمایی 40 X، رنگ‌آمیزی H&E. آتروفی و تحلیل فولیکول‌ها.

بحث

نتایج مربوط به هورمون‌شناسی نشان داد که میزان هورمون‌های 11- کتو تستوسترون و 17-بتا استرادیول در همه تیمارها اختلاف معنی‌داری با هم داشتند. به طوری که بیش‌ترین میزان هورمون در گروه شاهد و کم‌ترین آن در تیمار 3 مشاهده شد ($p < 0/05$). این امر نشان می‌دهد که عصاره ترخون بر روی تکامل جنسی و القای روند طبیعی تغییرات هورمونی جهت آمادگی برای تولیدمثل ماهی گورامی سه خال، تأثیر کاملاً منفی دارد و هرچه میزان عصاره مصرفی ترخون بیش‌تر باشد، اثر مضر و منفی آن بر تکامل جنسی این ماهی بیش‌تر است. به طوری که میزان هر دو هورمون مذکور با افزایش دوز عصاره ترخون مصرفی، در مقایسه با دوزهای کمتر، کاهش بیش‌تری یافت. این نتیجه به طور کلی بیانگر تأثیر 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 بافت‌شناسی نیز مشخص شد که عصاره ترخون تأثیر منفی بر تکامل تخمدانی ماهی گورامی سه خال دارد، به طوری که 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 به صورت واضح‌تر مشاهده شد. در

واقع در ماهیان تیمار شاهد که در تغذیه آن‌ها از عصاره ترخون استفاده نشد، 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. رشد و بلوغ تخمک‌ها شامل مراحل متفاوتی در ماهیان استخوانی است که این مراحل تحت کنترل هورمون‌های مختلف از قبیل

11- کتوتستوسترون، پروژسترون و 17-بتا استرادیول است. هورمون‌های استروئیدی به عنوان هورمون‌های درون ریز نهایی تأثیرگذار در توسعه گنادی هماهنگ با هورمون‌های گنادوتروپین (GTH) هیپوفیز شناخته شده‌اند. یکی از این هورمون‌های استروئیدی که ساخت آن‌ها در سلول‌های غیرجنسی گنادها صورت می‌گیرد، هورمون 11- کتوتستوسترون می‌باشد که باعث اعمال عملکردهای مکمل در طول توسعه بیضه در جنس نر می‌گردد و 17-بتا استرادیول نیز هورمونی استروئیدی است که باعث تحریک سنتز و ترشح ویتلوزین در کبد و تجمع آن در اووسیت‌ها می‌گردد. به طور کلی هورمون‌های استروئیدی اثرات معنی‌داری بر روی رشد گنادها دارند و در این ارتباط، 17-بتا استرادیول و 11- کتوتستوسترون بیش‌ترین اثر را دارند (Evans و همکاران، 2013؛ Abbasi و Matinfat، 2009؛ Johnson و همکاران، 1998). طی مطالعات و تحقیقاتی که طی سال‌های



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

1. Abbassi, F. and Matinfar, A., 2009. Interaction of ovarian development and gonadal hormones in *Epinephelus coioides* of Presian Gulf. Pajouhesh & Sazandegi. Vol. 79, pp: 72-80.
2. Ahmadlo, A.; Najafian, M.; Johari, H. and Kargar, H., 2012. The Effect of Tarragon Extract on Histopathological Changes in Female Rat Ovarian Tissue. Advances in Environmental Biology. Vol. 6, pp: 2809-2814.
3. Akpantah, A.; Oremosu, A.; Noronha, C.; Ekanem, T. and Okanlawon, A., 2005. Effects of Garcinia kola seed extract on ovulation, oestrous cycle and foetal development in cyclic female sprague dawley rats. Nigerian Journal of Physiological Sciences. Vol. 20, pp: 58-62.
4. 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.
5. 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.
6. Degani, G., 1993. The effect of sexual behavior on oocyte development and steroid changes in *Trichogaster trichopterus*. Copeia. Vol. 4, pp: 1091-1096.
7. Evans, D.H.; Claiborne, J.B. and Currie, S., 2013. The Physiology of Fishes. Fourth Edition. Taylor & Francis. 235 p.
8. Firouzbaksh, 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.
9. Jackson, K.; Abraham, M. and Degani, G., 2005. Cellular events in adenohipophysis of *Trichogaster trichopterus* (Pallas) during final oocyte maturation. Indian Journal of Fish. Vol. 52, pp: 1-13.

اخیر انجام شده است، مشخص شده که گیاهان خاصی می‌توانند در تمام اندام‌ها و دستگاه‌های بدن از جمله سیستم تولیدمثل، اثرات مخرب داشته باشند. کاربرد گیاه ترخون در طب سنتی برای زنان باردار به علت احتمال سقط جنین ممنوع بوده است (Kowalchik و همکاران، 1998). ترخون دارای ترکیباتی است که فعالیت ضدالتهابی قوی دارند (Ayoughi و همکاران، 2011؛ Mbiantcha و همکاران، 2011). ترکیبات ایگنول، آنه‌تول و فلاونوئیدهای موجود در برگ ترخون دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قوی هستند. از آنجایی‌که رسیدگی جنسی تخمدان به عنوان یک فرایند التهابی شناخته می‌شود (Wagner و Salah، 2009؛ Akpantah و همکاران، 2005) بنابراین امکان تحلیل بافت تخمدان و تغییر در تولید هورمون‌های جنسی در اثر استفاده از ترخون دور از انتظار نمی‌باشد.

از طرفی مشخص شده که فلاونوئیدهای موجود در عصاره ترخون، تولید اکسیدنیتریک را از طریق تأثیر بر روی ژن‌ها و آنزیم‌های تولید کننده اکسیدنیتریک، کاهش می‌دهد. اکسیدنیتریک بر روی پروسه‌های مختلفی همچون تقسیم سلولی تأثیر دارد و از این‌رو کاهش می‌تواند سبب کاهش تعداد سلول‌ها گردد (Raghav، 2006). ایزوانزیم‌ها سبب فعال نمودن تخمدان‌ها جهت تولید اکسیدنیتریک در بخش‌های مختلف می‌گردند و این فعالیت از طریق گنادوتروپین‌ها کنترل می‌شود (Khodaei، 2007). همچنین به نظر می‌رسد که اکسیدنیتریک بر روی سرخرگ تخمدانی تأثیر می‌گذارد (Cussons، 2007). بنابراین ترخون سبب کاهش تولید اکسیدنیتریک و در نتیجه کاهش مقدار هورمون‌های گنادوتروپین که در رشد فولیکولی موثراند می‌گردد و از این رو تأثیر منفی بر تکامل جنسی و تولیدمثل می‌گذارد.

همچنین برخی محققین اظهار نموده‌اند که فلاونوئیدها ترکیبات عمده موجود در ترخون هستند که مانع اوولاسیون در موش‌ها می‌گردند (Wagner و Salah، 2009؛ Akpantah و همکاران، 2005). همان‌طور که ذکر گردید، اوولاسیون و تکامل تخمک یک روند التهابی است و فلاونوئیدهای موجود در ترخون نیز اثر ضدالتهابی دارند (Ahmadlo و همکاران، 2012) 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 به میزان معنی‌داری کاهش یافته است و ترخون اثراتی مضر و آسیب‌زننده بر بافت تخمدان موش دارد (Ahmadlo و همکاران، 2012). یافته‌های این تحقیق در رابطه با موش، مشابه تحقیق حاضر در رابطه با ماهی گورامی سه‌خال است و تأکیدی بر تأثیر عصاره ترخون بر تحلیل بافت تخمدان و تغییر تولید هورمون‌های جنسی در ماهی گورامی سه‌خال است.

به عنوان نتیجه‌گیری نهایی می‌توان بیان داشت که با توجه به نتایج حاصله در تحقیق حاضر مشخص است که عصاره ترخون با تأثیری که بر روند تکامل جنسی ماهی گورامی سه‌خال دارد، خاصیت ممانعت‌کنندگی از فعالیت هورمون‌های جنسی دارد و از این رو است که میزان این هورمون‌ها به‌طور

10. **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.
11. **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.
12. **Kowalchik, C.; Hylton, W.H. and Carr, A., 1998.** Rodale's Illustrated Encyclopedia of Herbs, Rodale Books.
13. **Mbiantcha, M.; Kamanyi, A.; Teponno, R.B.; Tapondjou, A.L.; Watcho, P. and Nguелеfack, 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.
14. **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.
15. **Sabetsarvestani, M.M.; Sharafzadeh, S.; Alizadeh, A. and Rezaeian, A.A.; 2013.** Total Phenolic Content, Antioxidant Activity and Antifungal Property in Two Parts of Garden Thyme Shoot. *International Journal of Farming and Allied Sciences*. Vol. 22, pp: 1017-1022.
16. **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.
17. **Surburg, H. and Panten, J., 2006.** Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses. Wiley.
18. **Topfer, J. and Schindler, I., 2009.** On the Type Species of *Trichopodus* (Teleostei: Perciformes: *Osphronemidae*). *Vertebrate Zoology*. Vol. 59, pp: 49-51.
19. **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.

