

مقایسه تأثیر عصاره اتانولی ریزوم گیاه خولنجان (*Alpinia officinarum*) و ۱۷-آلفا متیل تستوسترون بر شاخص های کیفی اسپرم در ماهی مولی نر بالغ (*latipinna*) (*Poecilia*)

طاهره ناجی^{(۱)*}؛ همایون حسین زاده صحافی^(۲)؛ سمیرا بنفشی^(۱)

tnaji2002@gmail.com

۱- گروه علوم پایه ، واحد علوم دارویی ، دانشگاه آزاد اسلامی ، تهران ، ایران .

۲- سازمان تحقیقات شیلات ، تهران ، ایران .

تاریخ پذیرش: تیر ۱۳۹۴

تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۴

چکیده

در این تحقیق اثرات ۱۷-آلفا متیل تستوسترون و عصاره گیاه خولنجان بر سیستم تولید مثلی و سیستم آدرنال (هورمون کورتیزول) در ماهی مولی بالغ نر بررسی شد. بدین منظور، پس از کلرزدایی آب آکواریوم ها، ۱۰۰ عدد ماهی نر بالغ مولی با میانگین وزنی 3 ± 1 گرم در آکواریوم رها شد. سازگاری ماهی ها به مدت ۴۸ ساعت انجام شد. سپس فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب مثل دما، pH ، سختی آب و فشار اکسیژن محاسبه شد. آزمایش در ۱۰ گروه انجام شد. (۲ گروه کنترل و ۸ گروه تیمار) هر گروه شامل ۱۰ عدد ماهی نر و بالغ بود. ماهیان تیمار خولنجان، عصاره گیاه با مقادیر ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم و ماهیان تیمار ۱۷-آلفا متیل تستوسترون با مقادیر ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند. تزریق بصورت داخل عضله ای در عضله زیرباله پشتی، بصورت ۱ روز در میان و به مدت ۲۰ روز انجام شد. سپس ماهی ها بیهوش شدند. بافت بیضه آن ها جدا و در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد. آزمایشات زیست سنجی ماهی ها شامل اندازه گیری طول و وزن انجام شد. سپس مقایسه بافت شناسی بیضه تیمارها با گروه های شاهد انجام شد. نتایج نشان داد که شاخص گنادو سوماتیک در مقادیر ۳۰ و ۵۰ میلی گرم از گیاه خولنجان افزایش یافت ($P < 0.01$).

کلمات کلیدی: خولنجان، ۱۷-آلفا متیل تستوسترون، ماهی مولی، اسپرم، شاخص های کیفی.

*نویسنده مسئول

۱. مقدمه

سیستم تولید مثل در ماهیان همکاری مجموعه ای از دستگاہهاست که تحت هدایت و فرمان سیستم عصبی و هورمونی به چرخه خود ادامه می دهد. از مهمترین فاکتورهای داخلی و یا فیزیولوژیک که بر تولید مثل ماهی مؤثر است می توان به فاکتورهای اندوکرائینی و محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناد اشاره کرد (۱).

اختلالات جنسی و مسائل مربوط به آن از دیر باز یکی از مشکلات جامعه ی علمی و پزشکی بوده است. این اختلالات می تواند هم از نظر جسمی و هم روحی زندگی فرد را تحت تأثیر قرار دهد (۱۹). گیاهان دارویی متعددی از جمله گیاه خولنجان، برای رفع این مشکل در طب سنتی ملل مختلف استفاده شده اند. این گیاهان از طریق اثر بر قسمت های مختلف سیستم تولید مثلی بر روی میزان اسپرماتوژنز و خصوصیات و رفتارهای جنسی مؤثرند (۲۲). گیاهان مختلف تیره زنجبیل جهت افزایش اسپرماتوژنز و بهبود رفتارهای جنسی مورد استفاده قرار گرفته اند. بطور مثال عصاره آبی ریزوم گیاه *Alpinia calcarata* به صورت خوراکی درموش های نر باعث افزایش سطح تستوسترون خون و افزایش رفتارهای جنسی شده است (۱۷). ماهی مولی در سال های اخیر به علت شباهت بالای ژنتیکی، فیزیولوژیک و فارماکولوژیک با انسان، جهت ارزیابی مختلف مواد طبیعی و دارویی بکار برده شده است (۱). بطور کلی مولی ها، ماهیان بسیار مقاومی هستند و برای حفظ جمعیت خود در مناطق زیستشان بسیار شایسته هستند. این ماهیان همه چیز خوارند و غذاها متنوعی را می پذیرند و بطور عمده از غذای پولکی و کرم فشرده استفاده می کنند و به علت فعالیت زیاد و پرخوری دارای سوخت و ساز بدنی آنها زیاد می باشد. تکثیر این ماهی ها خیلی

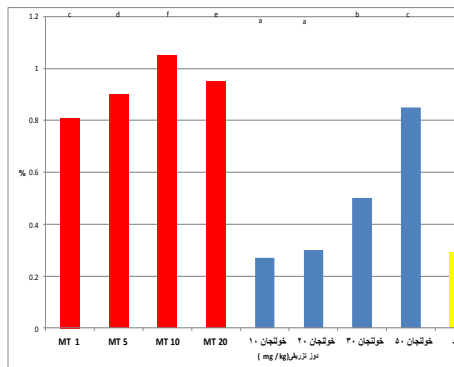
راحت و به سهولت انجام می شود و به خوردن بچه های خودشان زیاد علاقه نشان نمی دهند (۱).

با توجه به اینکه اثر گیاه خولنجان با نام علمی (*Alpinia officinarum*) بر سیستم تولید مثلی ماهیان تا کنون بررسی نشده، لذا در تحقیق حاضر اثرات این گیاه بر تحریک سیستم تولید مثلی ماهی مولی نر بالغ (*Poecilia latipinna*)، مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش ها

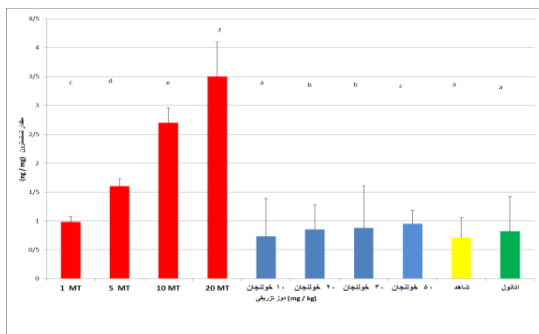
این تحقیق در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی تهران صورت پذیرفت. ماهی مولی نر بالغ از یکی از کارگاه های پرورش ماهیان زینتی در تهران تهیه گردید. این ماهیان در یک گروه تکثیری بودند. فاکتورها ی فیزیوشیمیایی آب در آغاز، میانه و پایان آزمایشات اندازه گیری گردید. دما بین ۲۸-۲۴ درجه سانتی گراد، pH بین ۷-۸ و درجه سختی بین ۱۰۰-۵۰ میلی گرم در لیتر کربنات کلسیم تنظیم گردید. پس از کلرزدایی آب آکواریوم ها، ماهیان نر بالغ با دامنه وزنی 3 ± 1 گرم در آب رها سازی شده و به مدت ۷۲ ساعت با محیط سازگار شدند. آزمایش در ۱۰ گروه (۲ گروه شاهد و ۸ گروه تیمار) در ۳ تکرار که هر گروه شامل ۱۰ عدد ماهی نر بالغ بود انجام گرفت. غلظت های مختلف ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ میلی گرم در هر کیلو گرم وزن بدن برای گیاه خولنجان و نیز مقادیر ۱۰، ۵، ۲۰ میلی گرم در هر کیلو گرم وزن بدن برای ۱۷ آلفا متیل تستوسترون بود. با توجه به اینکه عصاره خولنجان پس از حل در الکل اتیلیک، به گروه های تیمار تزریق گردید، لذا ۰/۰۲ سی سی اتانول ۸۰ درصد هم به ماهیان گروه کنترل تزریق گردید. گروه شاهد نیز بدون تزریق بود. تزریق ها به صورت عضلانی و یک روز در میان پس از بیهوش کردن ماهیان با PI₂₂₂ (شرکت پارس ایمن دارو)

۳. نتایج



شکل ۱. مقایسه شاخص رشد گنادی (GSI%) در تیمارهای مختلف پس از انجام تزریق (انحراف معیار \pm میانگین) با سطح اطمینان ۹۵٪

شاخص رشد گنادی در تیمارهای مختلف در شکل ۱ نشان داده شده است. در دو تیمار ۳۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم خولنجان، افزایش این شاخص دیده شد ($P < 0.01$).



شکل ۲. مقایسه ی میزان تستوسترون در تیمارهای مختلف. (انحراف معیار \pm میانگین) با سطح اطمینان ۹۵٪. حروف یکسان نشان دهنده معنی نبودن و حروف غیر یکسان نشان دهنده معنی دار بودن داده ها می باشد.

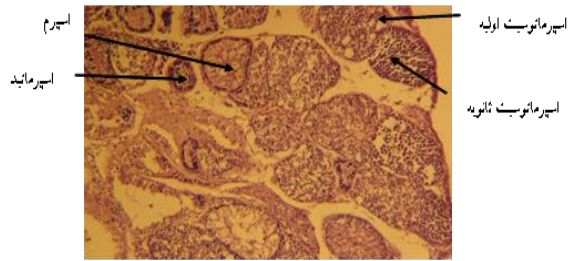
میزان تستوسترون در تیمارهای مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است. میانگین تستوسترون در کلیه ی تیمارهای خولنجان به میزان کمی افزایش یافت.

در عضله زیر باله پشته صورت گرفت (۲). پس از تزریق، ماهی های هر گروه در آکواریوم مربوطه رهاسازی شدند. همه تیمارها روزی یکبار بررسی می شدند تا ماهیان مرده از آکواریوم ها خارج گردند. آزمایشات سه بار تکرار شد. در طول آزمایشات برای کنترل شرایط محیط تمام فاکتور های فیزیکی - شیمیایی نظیر اندازه گیری اکسیژن، pH، درجه حرارت و سختی آب اندازه گیری شد. در پایان روز هفتم، ماهی ها با استفاده از PI222 مجدداً بیهوش شده، سپس با استفاده از خط کش زیست سنجی (طول استاندارد) و ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۱ گرم) (وزن) کل مورد بررسی قرار گرفت. سپس ماهیان بیهوش شده و بافت بیضه آنها خارج شد. پس از توزین بیضه ها به تفکیک هر تیمار، تعدادی بیضه از هر تیمار به عنوان نمونه در محل فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و پس از انجام مراحل پاساژ بافت، برش گیری با دستگاه میکروتوم به ضخامت ۸ میکرومتر و رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین ائوزین در زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. سپس شاخص گنادی، GSI بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید. که در آن Wg وزن گنادو و W، وزن کل بدن ماهی است. (۱۱).

$$GSI = \frac{wg}{w} \times 100$$

جهت تجزیه و تحلیل داده ها و بررسی معنی دار بودن اختلافات مشاهده شده در تیمارهای مختلف از نظر شاخص گنادوسوماتیک (GSI) و سایر موارد بررسی شده، از نرم افزار SPSS و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و مقایسه میانگین توسط آزمون دانکن استفاده شد. برای ترسیم نمودار نیز از نرم افزار Excel استفاده گردید.

اسپرمتاید و توده ی اسپرم (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰×)



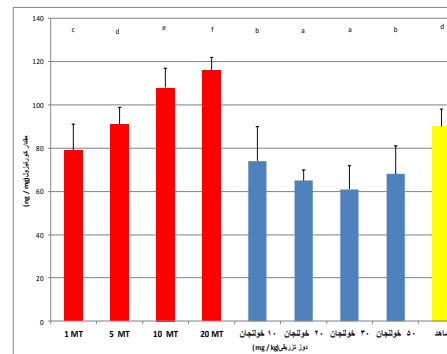
شکل ۶. مقطعی از بافت بیضه تیمار خولنجان $50 \frac{mg}{kg}$

، مراحل انتهایی بلوغ اسپرماتوزوئیدها لوبول ها بیشتر حاوی توده اسپرم (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی ۴۰×)

مقایسه ی مقاطع بافتی تیمارهای خولنجان با گروه شاهد و گروه کنترل نشان داد که تعداد لوبول های حاوی اسپرم در مقادیر بالای خولنجان افزایش یافت.

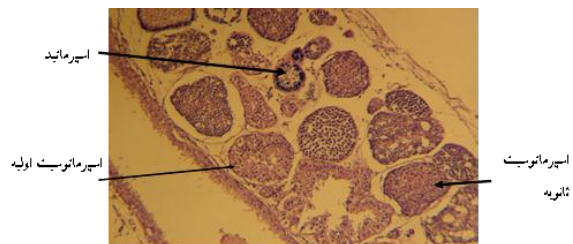
۴. بحث و نتیجه گیری

بررسی نتایج حاصل از درصد شاخص گنادی حاکی از آن است که گیاه خولنجان باعث افزایش این شاخص شد و در اثر افزایش مقدار عصاره گیاه، این شاخص به میزان بیشتری افزایش یافت. همچنین هورمون ۱۷-آلفا متیل تستوسترون نیز باعث افزایش شاخص گنادی شد که با تیمارهای شاهد اختلاف معنی دار داشت ($P < 0/01$) و میزان این افزایش، از شاخص رشد گنادی تیمارهای ۱۷-آلفا متیل تستوسترون بیشتر بود ولی در مقدار ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش میزان GSI ایجاد شد که این به دلیل اثر سمیت ۱۷-آلفا متیل تستوسترون در غلظت های بالا ایجاد شد (شکل ۱). نتایج حاصل از سنجش هورمونی حاکی از آن است که عصاره گیاه خولنجان و همچنین ۱۷-آلفا متیل تستوسترون، باعث افزایش سطح تستوسترون در ماهی گردیدند. ولی ۱۷-آلفا متیل تستوسترون افزایش بیشتری در میزان

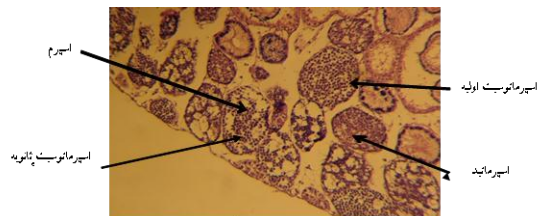


شکل ۳. مقایسه میزان کورتیزول در تیمارهای مختلف پس از انجام تزریقات. (انحراف معیار \pm میانگین) با سطح اطمینان ۹۵

میانگین کورتیزول در تیمارهای مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است که در تیمارهای خولنجان کاهش و در تیمارهای ۱۷ آلفا متیل تستوسترون افزایش یافته است و با تیمارهای شاهد اختلاف معنادار دارد ($P < 0/01$).



شکل ۴. مقطعی از بافت بیضه گروه شاهد، مراحل ابتدای بلوغ اسپرماتوزوئیدها، تعدادی لوبول حاوی اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتوسیت ثانویه و همچنین H&E اسپرماتاید دیده می شود (رنگ آمیزی بزرگنمایی ۴۰×)



شکل ۵. مقطعی از بافت بیضه گروه کنترل (تزریق اتانول)، مراحل ابتدایی بلوغ اسپرماتوزوئیدها تعدادی لوبول حاوی اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتوسیت ثانویه

که روی ماهی *Anguilla japonica* انجام دادند با کشت بیضه ماهی در محیط حاوی ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر هورمون ۱۱-کتوتستوسترون انجام دادند بعد از ۲۱ روز شاهد بلوغ بیضه و افزایش اسپرماتوژنز در آن شدند. تستوسترون از طریق اثر بر سلول های سرتولی باعث تولید هورمون های دیگر می شود که این هورمون ها باعث پیشرفت اسپرماتوژنز می شوند (۱۶). Walla و همکارانش در سال ۲۰۱۲، مطالعه ای روی ماهی *O. niloticus* انجام دادند و مشاهده کردند که استفاده از ۱۷-آلفا متیل تستوسترون به ماهی پس از ۶ ماه باعث افزایش وزن ماهی ها شد ولی کاهش قابل ملاحظه ای در *GSI* ایجاد نکرد (۸). همچنین در این ماهی ها کاهش قابل ملاحظه ای در سطح تستوسترون مشاهده نشد (۲۱). همچنین در این آزمایش اختلاف معنی داری از لحاظ وزن در تیمارهای مختلف تستوسترون مشاهده نشد. Little & Edward در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که افزایش وزن ناشی از ۱۷-آلفا متیل تستوسترون در نرها بیش تر از ماده ها بود (۱۳). افزایش وزن در نرها به دلیل اثر آندروژن های آنابولیک بر فاکتور رشد شبه انسولین است. Riley و همکارانش در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که این ماده باعث ازدیاد تولید پروتئین در ماهیچه ها، از طریق افزایش بیان ژن تولید پروتئین در سلول های ماهیچه ای می شود (۱۸). Lone & Matty در سال ۱۹۸۰ نشان دادند که ۱۷-آلفا متیل تستوسترون باعث افزایش هضم غذاهای پروتئینی می شود و از این طریق رشد ماهی را افزایش می دهد (۱۴). Higgs و همکاران در سال ۱۹۷۶ دریافتند که ۱۷-آلفا متیل تستوسترون باعث افزایش تولید هورمون رشد در ماهی سالمون گردید (۱۰). در سال ۲۰۰۹، Abdelhamid و همکارانش مشاهده کردند که تستوسترون آگزوزن، تولید هورمون گنادتروپین از هیپوفیز را سرکوب می کند و مانع تولید هورمون طبیعی و آندروژن

تستوسترون ایجاد کرد (شکل ۲). همچنین در مورد سطح خونی هورمون کورتیزول، مشاهده شد که عصاره گیاه خولنجان باعث کاهش سطح کورتیزول شد و در واقع اثر آرام بخشی و کاهش استرس روی ماهی ها داشت که این کاهش استرس در دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیشتر از بقیه بود و با سایر مقادیر دارای اختلاف معنی دار بود

($P < 0.01$). در حالی که تیمارهای ۱۷-آلفا متیل تستوسترون، در سطح کورتیزول خونشان نسبت به گروه شاهد افزایش قابل توجهی مشاهده شد ($P < 0.01$) (شکل ۳). نتایج بافت شناسی بیضه نشان داد که گیاه خولنجان باعث افزایش بلوغ سلول های جنسی در لوبول های بیضه شد و همچنین ۱۷-آلفا متیل تستوسترون نیز باعث افزایش بلوغ اسپرم ها در لوبول های بیضه شد و با افزایش دوز، به تدریج تعداد لوبول های حاوی اسپرم و اسپرماتید، افزایش یافت. این افزایش هم در اثر تزریق عصاره گیاه و هم در اثر تزریق ۱۷-آلفا متیل تستوسترون مشاهده شد ولی تاثیری که ۱۷-آلفا متیل تستوسترون در بلوغ اسپرم ها داشت از اثر عصاره گیاه بیشتر بود (شکل ۶). در سال ۲۰۰۵ Ratnasooria و همکارانش با آزمایشی که بر روی موش های نر انجام دادند، با دادن عصاره آبی گیاه *Alpinia calcarata* به این حیوانات به صورت خوراکی مشاهده کردند که در مقادیر پایین ۱۵۰ mg/kg و ۲۵۰ تغییرات زیادی از لحاظ رفتارهای جنسی در حیوانات مورد آزمایش مشاهده نشد. ولی در غلظت های بالاتر شامل ۵۰۰ mg/kg افزایش سطح تستوسترون و رفتارهای جنسی و میزان اسپرماتوژنز در آن ها مشاهده شد که این مشاهدات اثرات افزایش باروری و توانایی جنسی را نشان داد. که افزایش میزان اسپرم بدلیل اثرات افزاینده گیاه در سطح تستوسترون خون در حیوانات بوده است (۱۷). همچنین Mura و همکارانش در سال ۱۹۹۱ با مطالعه ای

استراحت ارتباطی بین آن‌ها مشاهده نمی‌شود (۱۲). این نشان می‌دهد که مقادیر بالای کورتیزول باعث کاهش تستوسترون می‌شود و در واقع با هم رابطه‌ی عکس دارند.

منابع

۱. نوری موگهی، م.ح.، نبوی، م.ب.، محمدزاده ثاقب، ح.ر.، حیدری، ز.، مروتی، ح.، موحدنیا، ع. ۱۳۹۰. فیزیولوژی ماهیان. انتشارات دانشگاه تهران. ص ۱۰۰.
۲. ناجی، ط.، حسین‌زاده، ه.، صفاری، م. ۱۳۹۳. بررسی اثرات فیتو استروژنی عصاره بابونه (*Matricaria recutita*) بر رشد و رسیدگی اووسیت‌های ماهی گورامی سه‌خال (*Trichogaster trichopterus*). مجله علمی شیلات ایران. سال بیست و سوم. ص ۸۵-۹۵.
3. Abdelhamid, A.M., A. I. Mehrim., M. F.O.Salem and H.A.Eyosuf . 2009. All male mono sex Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*), pros and cons. Egypt Basic Appl. Physiol . 8 :P41-57 .
4. Abdelhamid , A.M., Khalili, F,F and El barbarg, M.1998. Effect of using graded levels of gibberellic acid in diets differing in the crude protein levels on performance and chemical composition of Nile tilapia fingerlings . Egypt. J. quat . Biol & Fish . 2:P 221-233.
5. Andrea , G ., A. Raine ., Robert A., Schug, Yu Gao ., Douglas, A and Granger,B. 2011. Increase testosterone to cortisol in psychopathy . J. Abnorm psychol.120 :P389-399.
6. Bambino, TH and Hsueh AJ.1981. Direct inhibiting effect of Glucocorticoids upon testicular luteinizing hormone receptor and steroidogenesis invivo and in vitro . Endocrinology.108.

در ماهی تیلاپیا گردید (۳). در مطالعه‌ی EL-Halawany در سال ۲۰۰۲ مشاهدات هیستولوژیک بین گروه‌های تیمار تستوسترون و گروه کنترل تفاوت قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد (۹). در حالی که Mehrim و همکارانش در سال ۲۰۰۶ تغییرات غیر نرمال هیستولوژیک را در تیمارهای ۱۷-آلفامتیل تستوسترون مشاهده کردند که شامل تخریب سلول‌های جوانه‌ای و لوله‌های اسپرم بر بود (۱۵). در سال ۲۰۱۱، Dailiah با آزمایشی که روی رت‌های نر و ماده انجام داد مشاهده کرد که با دادن ترکیبی از عصاره چند گیاه که شامل گیاه (*Alpinia calcarata*) بود، پس از ۴۵ روز افزایش قابل ملاحظه‌ای در وزن موش‌ها نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (۸). در سال ۲۰۱۲ Sotoh و همکارانش با پژوهشی که انجام دادند، نشان دادند که بخار عصاره گیاه (*Alpinia zerumbet*) در موش سوری باعث کاهش اضطراب و استرس می‌شود (۲۰). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ توسط Andrea و همکارانش انجام شد، نسبت تستوسترون به کورتیزول در بزاق ۱۷۸ نمونه انسان بالغ، اندازه‌گیری شد و مشاهده شد که این نسبت در مشکلات روحی فرد تغییری نمی‌کند (۵). در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۵ توسط Kayek و همکارانش انجام گرفت میزان کورتیزول و تستوسترون در حالت استراحت و در هنگام ورزش کردن اندازه‌گیری شد و میزان هر دو هورمون در حالت ورزش کردن افزایش یافت (۱۲). در حالی که Hsueh و Bambino در سال ۱۹۸۱ و همکارانش و Cumming در سال ۱۹۸۳ نشان داده بودند که با افزایش کورتیزول در هنگام ورزش، میزان تستوسترون کاهش می‌یابد (۶،۷). در حالی که تحقیق Kayek مشخص شد که میزان تستوسترون در هنگام استراحت پایین است. یعنی در هنگام ورزش کردن این دو هورمون با هم ارتباط منفی معنی‌داری داشته ولی در هنگام

7. Cumming, D.C., Quigley, M.E and Yen, S.C. 1983. Acute suppression of circulating testosterone levels by cortisol in men.
8. Dailiah Roopha, P. 2011. Natural product antioxidants for oxidative stress induced by xenobiotics in the reproductive physiology of wistar rats. thesis of Ph.D. 5.P.20-43.
9. El-Halawany, M. 2002. Effect of treatment with 17- α methyl testosterone on growth performance feed and nutrient utilization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): M.V. sc. Thesis (animal production). 110.
10. Higgs, D.A., Donaldson, E. M., Dye H.M and Mc bride, J.R. 1976. Influence of bovine growth hormone and L-thyroxine on growth, muscle composition and histological structure of the gonads, thyroid, pancreas and Pituitary of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) Res. Board can. 22:P 1585- 1603.
11. Htun-Han, C. 1997. The Reproduction biology of the dablimnda in the north sea gonadosomatic index, hepato somatic index and condition factor. Fish Biol. 13:P 369-378.
12. Kayek, B., Anexaw, M. and Anthong, C. 2005. Relationship Between Circulating cortisol and testosterone in fluence of physical exercise. Journal of sport science and medicine. 4:P7.83.
13. Little, D and Edwards, D. 2004. Impact of nutrition and season on pond culture A., performance of monosex and minex – sex Nile Tilapia. Aquaculture. 232: P279-292.
14. Lone, K.D. and Matty, A. 1980. The effect of feeding methyltestosterone on growth and body comparison of common carp (*Cyprinus carpio*): Gen. Comp. Endocri. 40: P704-424.
15. Mehrim, A. I., Abdelhamid, A.M., Abdou-shousha, A., Salem, M.F.I and El-sharawy. 2006. Nutritious attempts to detoxify aflatoxin diets of tilapia fish. Clinical, Biochemical and Histological Parameters. Journal of the Arabian aquaculture society. 1:P69-90
16. Mura, T., Yamuchi, K., Takahashi, H., Nagahama, Y. 1991. Hormonal induction of all stages of spermatogenesis in vitro in the mal Japanese eel (*Anguilla japonica*) proc. Natl. Acad. USA. 88 : P5774-5778.
17. Ratnasooria, W.D. and Jayakody, J. 2005. Effects of Aqueous extract of Alpina calcarata Rhizomes on reproductive competence of male rats. Acta biologica Hungarica. 57:P23-35.
18. Riley, L.G., Hirano, T and Grau, E.G. 2004. Estradiol 17. Beta and dihydro testosterone differentially regulate vitellogenine and insulin like growth factor –I Production in primary hepatocytes of tilapia *Oreochromis mossambicus*. Comp. biochem. Physiol. C, toxicol. pharmaco. 138 : P177-186.
19. Sharma, V., Thakar, M., Singh chauhan, N., Kumar dixio, v. 2009. Evaluation of the anabolic, aphrodisiac and reproductive activity of Anacyclus pyrethrum DC in male rats. Scientia pharmaceutica. 77: P97-110.
20. Sotoh, M., Shuichi, L., Etsuko, K and Ken-ichi, Y. 2012. Effects of exposure to plant derived odorants on behavior on the concentration of stress – related hormones in steers isolated under a novel environment. animal science environment. 84:P159-164.
21. Wala, M., Salah, El., Din Azab, M.E., Hindi, A.D., Shaheen, A. 2012. Some physiological studies on induced monosex Nile tilapia using 17- α methyl testosterone. The global journal of fisheries and aqua. 5:P209-224.
22. Wun, C., Xie Jing, Xi., Paul Pui,

H.1986. Fertilize regulating agents from
traditional Chinese medicine .

Elsevier.5:P1-44.

The Effect of Ethanol Extract of Rhizome of (*Alpinia officinarum*) With 17 α -Methyl Testosterone on Sperm Quality Parameters in Adult Male (*Pocillia latipinna*)

Naji T. ⁽¹⁾ *, Hosseinzade H. ⁽²⁾ , Banafshi S. ⁽¹⁾

naji_t@iaups.ac.ir

- 1- Basic Sciences, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
- 2- Research Institute of Fisheries Organization, Tehran, Iran .

Received: April 2015 Accepted: July 2015

Abstract

In this study comparison between effect of 17 α -methyl testosterone and galangal extract on male *Pocillia latipinna* reproductive system and adrenal hormone (cortisol) were investigated. For this purpose after dechlorinated the water of aquariums, 100 mature fishes with mean weight 3-4 g were released in aquariums. Adaptation of fishes for 48 hours were done. Then physicochemical factors such as water temperature, pH, water hardness and (DO) were determined. The experiments were performed in 10 groups (2 control and 8 treated groups), each group consisted of 10 pieces of fishes that were male and mature (were injected 0.02 ml every time. Main fish treatments received 4 doses of galangal extract With 10, 20, 30 and 50 mg/kg and 17 α -methyl testosterone with 1,5,10,20 mg/kg. Injections were intra muscular under dorsal fin of fishes, Injections were done in every other day for 20 days. Then fish specimens were Killed. Their testes were removed and fixed in 10% formalin. Biometry of length and weight of fishes were measured. Then testes were removed and histological structures of testes were compared with control treatments. Results showed the gonadosomatic index was increased in 30 and 50 $\frac{mg}{kg}$.

Keywords: Kholanjan, 17 α - methyl testosterone, Molley fish, Sperm, Qualitative parameters

*Corresponding author