

بررسی اثرات فیتو استروژنی عصاره بابونه (*Matricaria recutita*) بر رشد و رسیدگی

اووسیت های ماهی گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*)

طاهره ناجی^{(۱)*}، همایون حسین زاده صحافی^(۲)، مانا صفاری^(۱)

* naji_t@iaups.ac.ir

۱- واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۲

تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۲

چکیده

عصاره بابونه منبع غنی از فیتو استروژن ها است، این ترکیبات خواص آنتی اکسیدانی، ضد سرطان و استروژنیک دارند. در این تحقیق اثر عصاره بابونه بر رشد و رسیدگی اووسیت ها، در ماهی گورامی ماده نابالغ بررسی گردید. بدین منظور ۶۰ قطعه ماهی ماده نابالغ گورامی با میانگین وزن ۳-۲ گرم در ۶ گروه تیماری مورد ارزیابی قرار گرفت. تیمار ها در قالب طرح آزمون کاملاً تصادفی و با دوز های مختلف گیاه بابونه (۱۰-۲۰-۳۰-۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن ماهی) به همراه گروه شاهد (بدون تزریق) و گروه کنترل اتانولی (تزریق حلال) و با ۳ تکرار، تحت آزمایش قرار گرفتند. مراحل آداپتاسیون ماهی ها به مدت ۳ روز به طول انجامید. تزریق عصاره به مدت ۲۰ روز، در ۱۰ نوبت به صورت یک روز در میان صورت پذیرفت. سه روز پس از پایان آزمایش ماهیان در هر تیمار بیهوش و پس از توزین و سنجش وزن تخمدان، مراحل پساژ بافتی و رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین جهت مطالعات هیستولوژیک انجام شد. در نهایت ساختار بافت شناسی تخمدان و میانگین درصد شاخص گنادی ماهیان تحت تیمار با گروه کنترل مقایسه گردید. بررسی نتایج حاصل از میانگین درصد شاخص گنادی، اختلاف معناداری بین گروه شاهد و گروه کنترل اتانولی نشان نداد ($p > 0.05$). بررسی ها نشان داد که میانگین درصد شاخص گنادی، با افزایش دوز عصاره بابونه، سیر صعودی داشته است که این امر در تیمار چهارم (دوز ۵۰ mg/kg) به شکل بارزتری خود را نشان داد. همچنین تفاوت بین قطر اووسیت ها با افزایش دوز عصاره بابونه مشاهده گردید و در مقایسه با گروه شاهد اختلاف آن معنی دار بود است ($p < 0.05$). نتایج بافتی نشان داد که افزایش دوز عصاره بابونه موجب تسریع رسیدگی اووسیت ها در ماهی گورامی سه خال می گردد.

لغات کلیدی: *Trichogaster trichopterus*، *Matricaria recutita*، شاخص گنادی، فیتواستروژن

*نویسنده مسئول

مقدمه

کاربرد هورمون ها امروزه به عنوان ابزاری در جهت تکثیر و پرورش آبزیان به کار گرفته شده است. لذا کسب دانش در خصوص نوسانات طبیعی هورمون های موثر در روند تولید مثلی در محیط های طبیعی زمینه فراهم آوردن اطلاعات اولیه در رابطه با استفاده از استروژن های اگزوژن مثل فیتواستروژن ها می باشد (حسین زاده صحافی، ۱۳۸۰).

رشد و تکامل گیاهان بوسیله برخی مواد شیمیایی با غلظت های بسیار کم کنترل می شود که این مواد را به نام هایی چون : "مواد رشد دهنده گیاهان"، "هورمون های گیاهی"، "فیتوهورمون ها" و "تنظیم کننده های رشد گیاهان" می شناسند (Bray et al., 2000).

فیتواستروژن ها در بسیاری از غذاها وجود دارند و فعالیت بیولوژیکی آنها در حیوانات در مطالعات متعددی به اثبات رسیده است. این ترکیبات بدین صورت تعریف می شوند که از نظر ساختمان و عمل، شبیه ۱۷-بتا استرول می باشند و یا این که اثراتی شبیه استروژن را ایجاد می نمایند (Wilcox., et al 1990). فیتواستروژن ها شامل چندین گروه از ترکیبات می شوند که از جمله لیگنان ها، ایزوفلاونوئیدها، کومستان ها و لاکتون های رسورسیلیک اسید را در بر می گیرند. فیتواستروژن های مصرفی در غذای انسانی در گروه فلاونوئیدها قرار دارند (Anthony et al., 1995). فلاونوئیدها همچنین دارای اثرات آنتی اکسیدانت، آنتی موتاژنیک و ضد التهاب نیز می باشند (Pietta., 2000).

فیتواستروژن ها سبب کاهش عوامل خطر بیماری های قلبی- عروقی همچون هیپرلیپیدمی و آترواسکلروز شده اند (et al., 1998). در زنان یائسه که میزان استروژن در محیط کم است فیتواستروژن ها اثرات استروژنیکی خود را قوی تر ارایه می نمایند و سبب کاهش برخی علائم مانند گرگرفتگی، خشکی واژن می گردند. مطالعات نشان داده که این ترکیبات سبب محافظت در برابر خطر ابتلا به سرطان پستان، تخمدان، مثانه، کولون، آندومتر و استئوپروز (خطر از دست دادن کلسیم استخوان) و سندرم منوپوز (MPS)

می شوند (آزاد بخت، ۱۳۸۵). بر همین اساس برخی مطالعات تجویز فیتواستروژن ها را جایگزینی مفید برای درمان جایگزین هورمونی (HRT) معرفی کرده اند (Grodstein., 1997). مصرف فیتواستروژن

ها اثرات مفیدی بر کیفیت خواب، بهبود خلق و حتی بیماری آلزایمر دارد (Humfrey., 1998).

ترکیبات طبیعی، به خصوص گیاهان طبی می توانند منبع یافتن ترکیبات جدید باشند (صمصام شریعت، ۱۳۷۱). در این میان گل بابونه به عنوان یک گیاه دارویی مهم در فارماکوپه های معتبر دارای اعتبار جهانی است.

تاکنون مشخص شده است که روند مصرف داروهای گیاهی در دنیا رو به افزایش است. جایگاه فرآورده های دارویی گیاهی در طب سنتی و طب نوین از دو دیدگاه مجزا مورد تایید بوده و اثبات شده است (Padilla et al., 2006). البته در مواردی تاثیرات مولکولی مواد موجود در فرآورده های گیاهی از نظر مکانیسم اثر با نظریه های تاثیر اختصاصی داروها بر روی گیرنده ها منطبق می باشد

(Suetsugi et al., 2007). تاثیر مصرف فیتواستروژن ها از این نظر نیز مورد تایید می باشد. ایجاد اثرات رقابتی با استروژن های آندوژن (داخل بدن) برای اشغال گیرنده های محیطی سبب حفظ تعادل واکنش های ناخواسته حاصل از تغییرات غلظت هورمون های زنانگی و سلامت بافت های بدنی در قبل و بعد از دوران یائسگی می گردد (Nielsen et al., 2007).

لذا با توجه به تغییرات هورمونی و بعضا مصرف داروهای استروژنیک، کنترل عوارض و حفظ سلامتی با عرضه فرآورده های طبیعی در اولویت های تولید در شرکت های داروسازی قرار گرفته است. توصیه به مصرف کمکی و در اختیار قرار دادن اینگونه استروژن های گیاهی نه تنها سبب حفظ سلامت خواهد شد، بلکه از درآمدزایی و بازار مصرف مناسبی نیز برخوردار است (Moutsatsou., 2007).

با توجه به کاربرد گیاه مذکور به عنوان داروی ممانعت کننده در سرطان پستان، در تحقیق حاضر اثر گیاه بابونه بر رشد و رسیدگی اووسیت های ماهی گورامی سه خال نابالغ با هدف بررسی تاثیر بر تخمدان انجام شد.

مواد و روش ها

این تحقیق از اردیبهشت لغایت خرداد ۱۳۹۲ در Fish lab دانشگاه آزاد، واحد علوم دارویی انجام شد. در این پژوهش تعداد ۶۰ قطعه ماهی گورامی ماده نابالغ با میانگین وزنی ۲-۳ گرم از کارگاه تکثیر

و پرورش ماهیان زینتی شیلان گستر سبز واقع در شهر آستانه اشرفیه تهیه گردید، تیمارها به طور تصادفی به ۶ گروه ۱۰ تائی تقسیم شده و در شرایط (حرارت ۲۳-۲۰ درجه سانتی گراد و پریدو شبانه روزی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. ماهی ها به صورت روزانه از غذای حاوی ۴۰ درصد پروتئین، ۱۱ درصد چربی، ۳ درصد مواد معدنی و ۱۶ درصد کربو هیدرات تغذیه گردیدند و نظافت فیلترها به صورت یک روز در میان صورت پذیرفت.

گروه شاهد هیچ ماده ای دریافت نکرد و گروه های تیمار ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم، عصاره بابونه را با چهار دوز ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن ماهی به صورت تزریق در عضله پشتی ماهی دریافت نمودند (جدول ۱). تزریقات پس از بیهوش کردن ماهی ها با استفاده از عصاره آویشن در عضله پشتی انجام گردید. تزریقات به مدت ۲۰ روز، در ۱۰ نوبت به صورت یک روز در میان و به مقدار ۲۰ میکرو لیتر صورت پذیرفت. آزمایش ها در ۶ گروه طبق جدول (۱) صورت گرفت. دوز مورد استفاده به ازای وزن بدن ماهی محاسبه گردید.

جدول ۱: نوع و مقدار ماده تزریق شده به تیمارها در هر گروه

گروه تیمار	ماده تزریقی	دوز تزریق شده (mg/kg)
1	بابونه	۱۰
2	بابونه	۲۰
3	بابونه	۳۰
4	بابونه	۵۰
5	کنترل ۱ (شاهد)	بدون تزریق
6	کنترل ۲ (اتانولی)	۲۰ میکرو لیتر

برای تهیه عصاره بابونه ابتدا گیاه، با ترازویی به دقت ۰.۱ گرم وزن شده پودر آن را تهیه کرده و سپس در طی سه مرحله به مدت ۱۰ روز با حلال اتانولی عصاره گیری صورت پذیرفت. عصاره به دست آمده در پلیت به مدت ۳ روز در دمای آزمایشگاه تغلیظ گردید. مقادیر مورد نیاز از عصاره آماده شده جهت سازی دوزهای لازم توزین گردید و با حلال اتانولی به غلظت مورد نظر رسید.

سه روز پس از پایان تزریقات، نمونه ها در هر تیمار با استفاده از عصاره آویشن بیهوش گشته، پس از کالبد شکافی تخمدان ماهی ها به دقت جداسازی شده، توزین گردید و جهت انجام فیکساسیون در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از طی مراحل پاساژ بافت، برش گیری از مقاطع تخمدان و رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین اتوزین، مطالعات بافت شناسی از طریق میکروسکوپ نوری صورت پذیرفت. در نهایت ساختار بافت شناسی تخمدان و میانگین در صد شاخص گنادی ماهیان تحت تیمار با گروه کنترل مقایسه گردید.

شاخص گنادی بر اساس فرمول زیر برای هر ماهی در تیمار محاسبه گردید.

که در آن WG وزن گناد (گرم) و W وزن کل بدن ماهی (گرم) است.

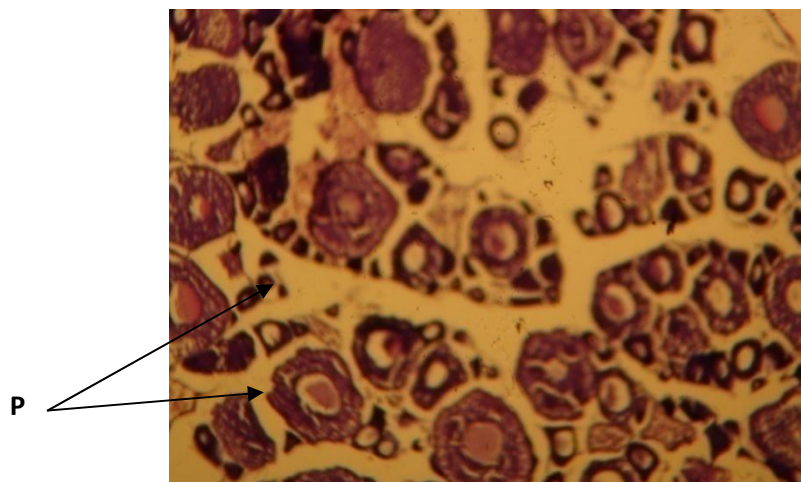
$$GSI = \frac{WG}{W} \times 100$$

جهت تجزیه تحلیل اطلاعات ثبت شده از نرم افزار SPSS و Excel استفاده شد، SPSS برای آنالیز داده ها و Excel به منظور رسم نمودارها مورد استفاده قرار گرفت. در ادامه مقایسه بین داده ها به کمک آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و تست Duncan مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

در بررسی مقاطع بافت شناسی تخمدان ماهیان گروه شاهد (بدون تزریق) و گروه کنترل اتانولی (تزریق حلال)، اووسیت ها در مرحله

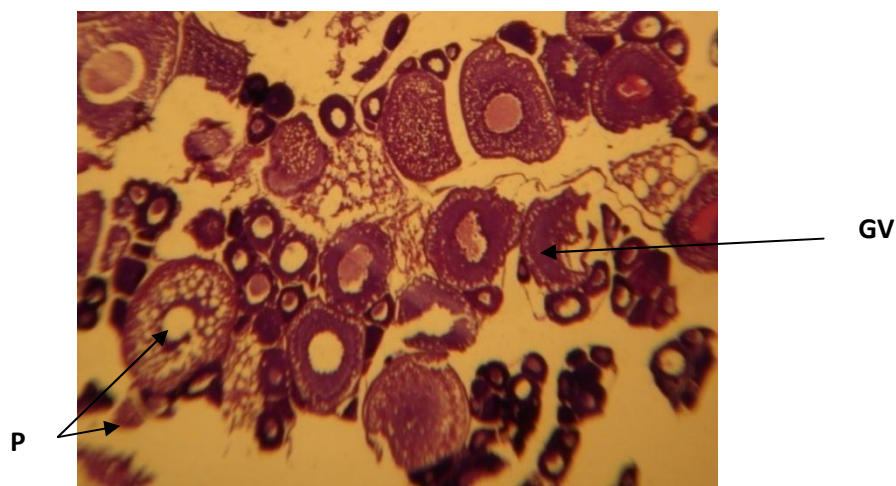
پیش هستکی می باشند، وزیکول زایا در مرکز اووسیت و ذرات چربی به طور پراکنده در اووپلاسم قابل رویت اند (شکل ۱).



شکل ۱: مقطعی از بافت تخمدان گروه شاهد، اووسیت ها در مرحله پیش هستکی (P)، (H&E، $\times 400$)

ذرات چربی به شکل پراکنده در اووپلاسم مشاهده می گردد (شکل ۲).

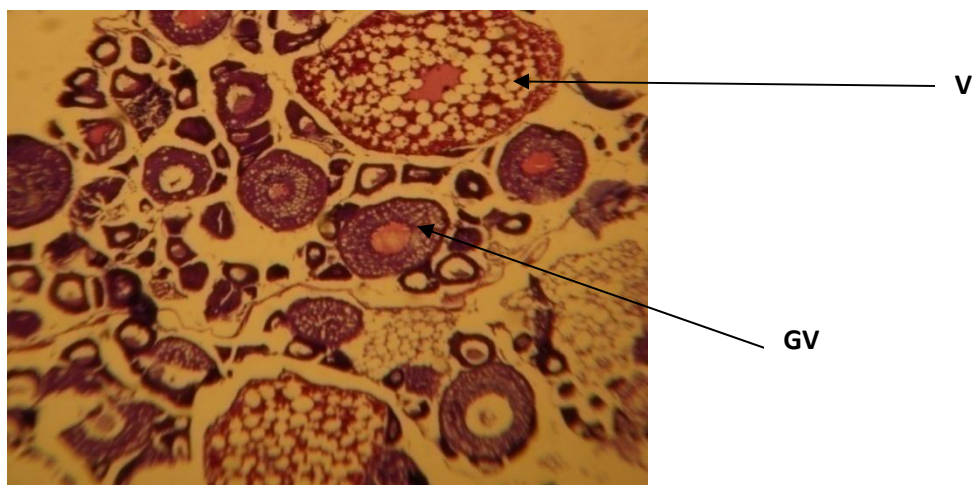
در مشاهدات انجام شده ساختار بافتی تیمار اول در مقایسه با گروه شاهد اغلب اووسیت ها در مرحله پیش هستکی بوده و همچنان



شکل ۲: مقطعی از بافت تخمدان گروه شاهد، اغلب اووسیت ها در مرحله پیش هستکی (P)، حضور وزیکول زایا (GV) در مرکز اووسیت، (H&E، $\times 400$)

درمقایسه مقاطع بافتی حاصل از تیمار دوم با گروه شاهد تعداد کمتری از اووسیت‌ها در مرحله پیش هستکی هستند و تعدادی از

اووسیت‌ها وارد مرحله شروع ویتلوژنز شده‌اند. وزیکول زایا همچنان در مرکز اووسیت‌ها قرار دارد (شکل ۳).

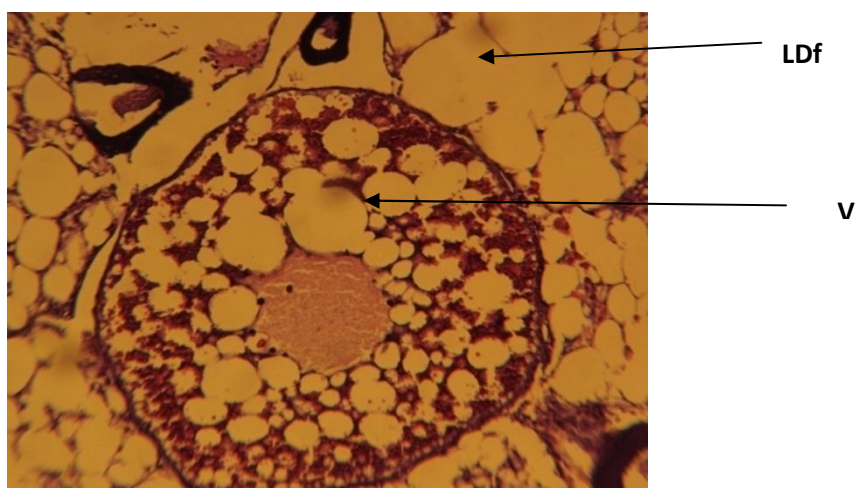


شکل ۳: مقطعی از بافت تخمدان ماهیان تیمار دوم، تعدادی از اووسیت‌ها در مرحله

شروع ویتلوژنز (V)، حضور وزیکول زایا (GV) در مرکز اووسیت، (H&E، $\times 400$)

مرحله انتهایی ویتلوژنز می‌باشند (شکل ۴).

در بررسی مطالعات بافتی حاصل از تیمار سوم با گروه شاهد، ذرات چربی شروع به پیوستن به یکدیگر نموده و اغلب اووسیت‌ها در

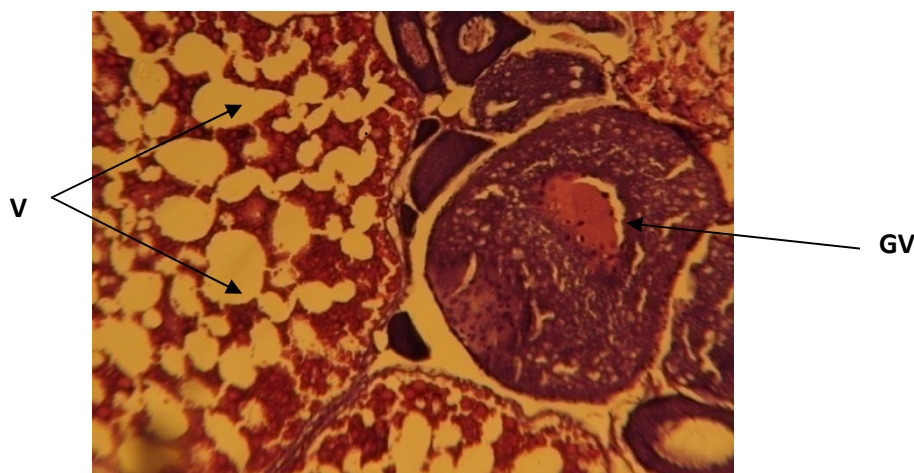


شکل ۴: مقطعی از بافت تخمدان ماهیان تیمار سوم، اغلب از اووسیت‌ها در مرحله انتهایی ویتلوژنز (V)،

شروع اتصال ذرات چربی به یکدیگر (Lipid Droplet follicle)، (H&E، $\times 400$)

در مقایسه تیمارچهارم با گروه شاهد اغلب اووسیتها در مرحله پایان ویتلوژنز قرارداشتند، نکته قابل توجه در این تیمار شروع حرکت وزیکول زایا به سمت قطب جانوری و حرکت کامل آن در

بعضی اووسیتها بود، ذرات چربی به صورت متصل به هم دراطراف وزیکول زایا مشاهده می گردد (شکل ۵).

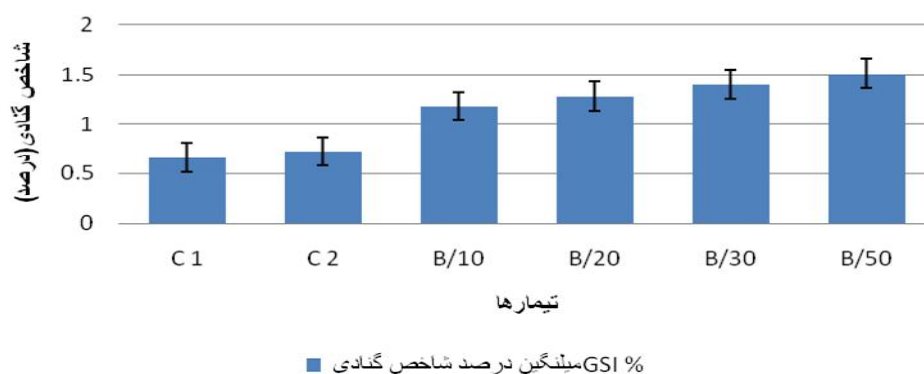


شکل ۵: مقطعی از بافت تخمدان ماهیان تیمارچهارم، حرکت وزیکول زایا به سمت قطب جانوری (Germinal Vesicle) اتصال ذرات چربی به یکدیگر (Ldf)، (H&E، $\times 400$)

بررسی نتایج حاصل از ۴ تیمار بابونه با دوزهای (۱۰-۲۰-۳۰-۵۰ میلی گرم در هر کیلو گرم وزن ماهی) نشان داد که گروههای تحت تیمار با بابونه از نظر شاخص GSI دارای اختلاف معنی دار آماری نسبت به گروه شاهد بوده اند ($p < 0.05$) این امر در بررسی مقاطع بافتی و مقایسه با گروه شاهد نیز تایید شد (نمودار ۱).

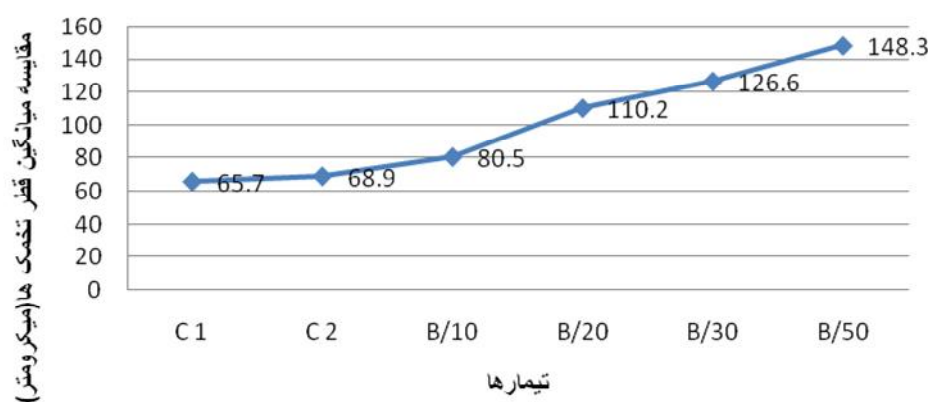
استفاده از عصاره بابونه با دوز ۵۰ میلی گرم در هر کیلو گرم وزن بدن ماهی می تواند سبب تسریع در رسیدگی اووسیتها در ماهی

گورامی سه خال شود و این تاثیر نسبت به سایر دوزها بارزتر بوده است. نتایج حاصل از مقایسه گروه شاهد و کنترل که دریافت کننده اتانل بوده اختلاف معنی داری را از نظر شاخص گنادی نشان نداد ($p > 0.05$) در مقایسه مقاطع بافتی نیز تغییر چشمگیری حاصل نشد، که این امر بیانگر بی تاثیر بودن حلال به کار رفته در روند تسریع رسیدگی نهایی می باشد.



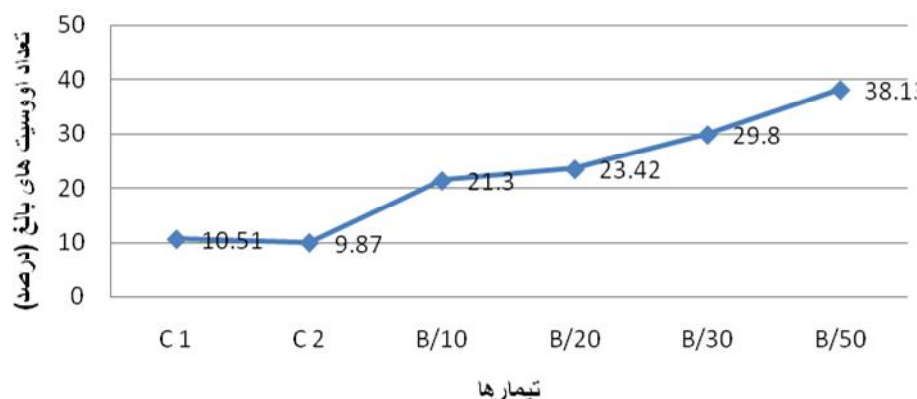
نمودار ۱: مقایسه درصد شاخص گنادی بین گروههای مختلف (*Trichogaster trichopterus*)

نتایج حاصل از میانگین قطر تخمک ها نشان دهنده آن است که با افزایش دوز در تیمارهای بابونه، افزایش قطر اووسیت ها مشاهده شد (نمودار ۲).



نمودار ۲-مقایسه میانگین قطر تخمک ها در تیمارهای مختلف

همچنین نتایج به دست آمده نشان داد که با افزایش دوزهای بابونه تعداد اووسیت ها رو به افزایش است (نمودار ۳).



نمودار ۳: در صد تعداد اووسیت های بالغ در هر تیمار

بحث

به نظر می رسد تزریق عصاره بابونه به دلیل وجود ترکیبات فیتواستروژنیک سبب افزایش رشد و رسیدگی اووسیت ها در ماهی گورامی سه خال گردید. ولیکن مطالعه حاضر نشانگر آن بود که تجویز عصاره اتانولی بابونه در مقادیر به کار رفته (۱۰-۲۰-۳۰-۵۰ میلی گرم در هر کیلو گرم وزن ماهی)، نه تنها اثر نامطلوبی بر بافت تخمدان و روند رسیدگی تخمکها ندارد، بلکه سبب سرعت بخشیدن به فرآیند بلوغ اووسیت ها نیز می گردد. افزایش شاخص GSI گروه های تحت تیمار بابونه در مقایسه با گروه شاهد نشانگر خواص مثبت این ترکیب در تسریع رسیدگی جنسی ماهی گورامی نابالغ می باشد.

افزایش درصد تعداد اووسیت های بالغ در این تحقیق در راستای مطالعه Jefferson می باشد. وی خاطر نشان ساخت که جنیستین سویا در طول تمایز تخمدان مانع از بین رفتن اووسیت ها شد و مرگ اووسیت ها را کاهش می دهد. بنابراین تعداد اووسیت های در دسترس و آماده برای رشد و نمو بیشتری را مهیا می نماید (Jefferson et al., 2006).

نتایج حاصل از این تحقیق با سایر مطالعات بدست آمده مبنی بر اثرات فیتو استروژنی بابونه مطابقت دارد. بر این اساس، طبق نتایج حاصل از مطالعه که توسط Chadwich و همکارانش انجام گرفت

اثر مثبت گیاه رازک بر کاهش علائم یائسگی مشاهده گردید که این امر ناشی از اثر فیتواستروژن رازک می باشد (et al., 2006 Chadwich). در همین راستا، تحقیقات Morehead و همکاران نشان داد که جایگزینی هورمون های گیاهی حاوی فیتواستروژن ها در کنترل علائم یائسگی بسیار موثر می باشد و ثابت شده است که گیاهان حاوی استروژن ها فاقد اثرات منفی استروژن های صنعتی می باشند، که تصدیقی بر مطالعه حاضر می باشد (Morehead et al., 1998).

با توجه به یافته های این پژوهش، به نظر می رسد که عصاره بابونه در دوزهای به کار برده شده اثرات مطلوبی بر رشد رسیدگی اووسیت ها در جنس مونث دارد، بنابراین با توجه به اثرات مفید این گیاه بر بسیاری از سیستم های بدن، به نظر می رسد استفاده از این گیاه در غلظت متعادل در رژیم غذایی جنس مونث، اختلالی بر روند تولید مثلی ایجاد نکرده و استفاده از آن اثرات جانبی قابل ملاحظه ای در پی نداشته باشد. هر چند ارایه یک نتیجه گیری نهایی در این راستا نیاز به مطالعات گسترده ای در ابعاد گوناگون به ویژه از نقطه نظر فیزیولوژیکی دارد.

منابع

آزاد بخت، م. ۱۳۸۵. فیتو استروژن ها، فصلنامه گیاهان دارویی، ۱-۱۰، ۲۱(۶).

- Humfrey, C. D. 1998.** Phytoestrogens and human health effects: weighing up the current evidence, *Natural Toxins*. 6, 51–59.
- Jefferson, W., Newbold, R. and Padilla-Banks, E. 2006.** Neonatal Genistein Treatment Alters ovarian differentiation in the Mouse: Inhibition of Oocyte Nest Breakdown and Increased Oocyte Survival. *Biology Reports*. 74, 161-8.
- Morehead, D. T., Pakhurst, N. W. and Ritar, A. 1998.** Effect of treatment with LHRH analogue on oocyte maturation, plasma sex steroid levels and egg production in female Striped trumpeter *Latris lineate* (Latrididae). *Aquaculture*. 169, 315-331.
- Moutsatsou, P. 2007.** The spectrum of phytoestrogens in nature: our knowledge is expanding, *Hormones*. 6(3), 173–193.
- Nielsen, I. L. F. and Williamson, G. 2007.** Review of the factors affecting bioavailability of soy isoflavones in humans, *Nutrition and Cancer*. 57(1), 1–10.
- Padilla, F. M. and Pugnaire, F. I. 2006.** The role of nurse plants in the restoration of degraded environments. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 4, 196–202.
- Pietta, P. G. 2000.** Flavonoids as antioxidants, *Journal of Natural Products*. 63(7), 1035–1042.
- حسین زاده صحافی، ه. ۱۳۸۰.** بیولوژی تولید مثل ماهی با تاکید بر ماهی‌های ایران، موسسه نشر جهاد وابسته به جهاد دانشگاهی واحد تهران، صفحات ۲۳–۴.
- صمصام شریعت، ه. ۱۳۷۱.** عصاره‌گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آن‌ها، انتشارات مانی، جلد اول، صفحه ۱۹.
- Anthony, M. S., Clarkson, T. B. and Williams, J. K. 1998.** Effects of soy isoflavones on atherosclerosis: potential mechanisms, *The American Journal of Clinical Nutrition*. 68, 1390–1393.
- Anthony, M. S., Clarkson, T. B. and Weddle, D. I. 1995.** Effects of soy protein phytoestrogens on cardiovascular risk factors in rhesus monkeys, *Journal of Nutrition*. 125, 803-804.
- Bray, E. A., Bailey-Serres, J. and Weretilnyk, E. 2000.** Responses to abiotic stresses. In *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Edited by Buchanan B, Gruissem W, Jones R. Rockyville, Maryland: American Society of Plant Physiologists, pp.1158-1203.
- Chadwich, L. R., Pauli, G. F. and Farnsworth, N. R. 2006.** The pharmacognosy of *Humulus lupulus* L. (hops) with an emphasis on estrogenic properties, *Phytomedicine*, 13, 119–131.
- Grodstein, F., Stampfer, M. J. and Colditz, G. A. 1997.** Postmenopausal hormone therapy and mortality. *The New England Journal of Medicine*, 336, 1769–75.

Suetsugi, M., Su, L., Karlsberg, K., Yuan, Y. C. and Chen, S. 2003. Flavone and isoflavone phytoestrogens are agonists of estrogen-related receptors, *Molecular Cancer Research*. 1(13), 981–991.

Wilcox, G., Wahlquist, M. L., Burger, H. G. and Medley, G. 1990. Oestrogenic Effects of Plant Foods in Postmenopausal Women. *British Medical Journal*. 13, 905-906.

The effects of phytoestrogens *Matricaria recutita* on growth, maturation of oocytes in the three spot gourami (*Trichogaster trichopterus*)

Naji T.⁽¹⁾; Hossenzadeh Sahafi H.⁽¹⁾; Saffari M.⁽¹⁾

naj_t@iaups.ac.ir

- 1- Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
- 2- Iranain fisheries Research Organization, Tehran, Iran.

Key words: *Matricaria recutita* , *Trichogaster trichopterus* , Gonadal index, phytoestrogen

Abstracts

Chamomile is a rich source of phytoestrogens; these compounds have antioxidant, anticancer . In this study, the effects of chamomile on growing oocytes in immature female gourami fish were examined. Thus 60 immature female gourami fish with an average weight of 2-3 g of 6-treated group were analyzed. Treatments in a completely randomized experimental design with a dose of chamomile (10-20-30-50 mg/kg fish) along with control (no injection) and ethanol control (solvent injection) and with three replicates were tested. The fish adaptation to the environment lasted 3 days. The extract injections were done for 20 days, in 10 periods, every other day. In order to histological study ,three days after end of the experiment, the ovarian tissue was removed and weighed, tissue processing and staining steps done with hematoxylin- eosin . At last the histological structure of the ovaries and the average percentage of treated fish gonadal indices were compared with the control group. According to our results of gonadal index, there was no significant difference between the control groups with receiving Ethanol ($p>0.05$). Histological results showed that increasing the dose of chamomile extract accelerate oocyte maturation in three spot gourami . This is the fourth treatment (dose, mg / kg 50) to show its obvious. The difference between oocyte diameter was observed with increasing doses of Chamomile and in comparison with the control group, the difference was significant ($p<0.05$). Histological results showed that increasing the dose of Chamomile accelerate oocyte maturation in three spot gourami .

*Corresponding author