

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره نهم، شماره دوم، تابستان ۱۳۸۹، ۱۲۴-۱۱۷

تأثیر عصاره دانه گرده خرما بر غلظت سرمی استروژن، پروژسترون و گنادوتروپین در موش‌های صحرایی ماده بالغ

عبدا... مشتاقی^۱، حبیب... جوهری^۲، مهرداد شریعتی^۳، جمیله امیری^۴

دریافت مقاله: ۸۶/۱۰/۲۰ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۷/۳/۲۱ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۹/۲/۶ پذیرش مقاله: ۸۹/۳/۵

چکیده

زمینه و هدف: گیاهان دارویی در طول تاریخ پزشکی اهمیت زیادی داشته‌اند که یکی از این گیاهان، نخل خرما از گونه Phoenix Dactylifera و از تیره پالماسه است. دانه گرده خرما دارای ۵ ترکیب شیمیایی می‌باشد که چهار ترکیب آن فعالیت بیولوژیکی دارند. هدف از تحقیق حاضر، تعیین اثرات عصاره دانه گرده خرما بر غلظت سرمی هورمون‌های استروژن، پروژسترون و گنادوتروپین در موش‌های ماده بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار که از محل خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه شده بودند، به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. جهت هم‌سایکل‌سازی موش‌ها از هورمون‌های جنسی استفاده شد. عصاره دانه گرده خرما به صورت صفافی به مدت ۱۴ روز به گروه‌های تجربی در اندازه‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شد. گروه کنترل هیچ عصاره‌ای دریافت نکرد و گروه حلال فقط حلال دارو دریافت نمود. نمونه‌های خونی در پایان روز ۱۴ تهیه و غلظت هورمون‌های LH، FSH، استروژن و پروژسترون اندازه‌گیری شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری ANOVA و سپس آزمون توکی استفاده شد. $p < 0/05$ اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده نشان داد که غلظت سرمی هورمون‌های LH و FSH در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده مقادیر مختلف دارو نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. تجویز عصاره با مقادیر ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، غلظت هورمون‌های استروژن و پروژسترون را افزایش داد ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های این پژوهش، دانه گرده خرما غلظت استروژن و پروژسترون را به طور معنی‌داری افزایش داده اما بر میزان گنادوتروپین‌ها بی‌تأثیر بوده است.

واژه‌های کلیدی: دانه گرده خرما، استروژن، پروژسترون، گنادوتروپین، موش‌های صحرایی

۱- (نویسنده مسئول) کارشناس ارشد گروه آموزشی زیست‌شناسی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

تلفن: ۰۷۷۱-۵۵۵۳۲۲۰ دورنگار: ۰۷۷۱-۲۵۳۳۴۹۹ پست الکترونیکی: A44_moshtaghi865@yahoo.com

۲- استادیار گروه آموزشی فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم

۳- استادیار گروه آموزشی زیست‌شناسی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون

۴- کارشناس ارشد گروه آموزشی زیست‌شناسی، عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون

مقدمه

پیری می‌شود. به طور کلی، گرده خرما دارای چربی زیادی است و انرژی زیادی آزاد می‌کند. همچنین از بروز امراض پیری جلوگیری کرده و برای بهبود ساییدگی مفاصل سالمندان نیز مفید به نظر می‌رسد [۲]. یک بررسی نشان داده است فضولات موش‌هایی که به مدت شش ماه با رژیم غذایی محتوی گرده خرما تغذیه شدند، فاقد میکروب (دارای هاگ‌های غیرفعال باکتری) بوده است و با توجه به نتایج این بررسی به نظر می‌رسد دانه گرده خرما محتوی آنتی‌بیوتیک‌های فعال بوده و قادر است از رشد میکروب‌ها جلوگیری نماید [۱-۲].

تخمک‌گذاری یکی از فرآیندهای مهم در تولید مثل می‌باشد و اختلالات ایجاد شده در آن منجر به نازایی می‌گردد. به منظور جلوگیری از این اختلالات، داروهای شیمیایی متعددی ساخته شده‌اند که هر یک دارای عوارض جانبی متعددی می‌باشند. داروهای گیاهی نسبت به داروهای شیمیایی عوارض کمتری دارند [۱].

ناباروری ناشی از شیمی درمانی در پستانداران توسط دانه گرده خرما پیشگیری می‌شود [۳]. با توجه به این که در تحقیقات گذشته مشخص گردیده که مقدار ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره دانه گرده خرما در باروری موش‌های نر تأثیر داشته است [۳]. در این تحقیق از مقادیر بالاتر (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و مقادیر پایین‌تر (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) عصاره دانه گرده خرما استفاده شد تا تأثیر آن بر غلظت سرمی استروژن، پروژسترون و گنادوتروپین‌ها در موش ماده بالغ بررسی شده و نتایج به دست آمده مورد استفاده مراکز مطالعاتی و کاربردی آندوکرینی و باروری قرار گیرد.

گیاهان دارویی در طول تاریخ پزشکی اهمیت زیادی داشته‌اند. یکی از این گیاهان، نخل خرما از گونه Phoenix Dactylifera و از تیره پالماسه است.

از نظر دارویی، خرما به عنوان مسهل و ملین استفاده می‌شود و قسمتی از مرهم‌های مختلف، بانداژها و تجویزهای چشمی را تشکیل می‌دهد [۱].

خرما یک ماده پر انرژی است و علاوه بر آن، قادر است دردهای کمر را معالجه کند، چنانچه خرما با بادام در هنگام صبح مصرف شود باعث افزایش حجم منی و میل جنسی می‌گردد. به نظر می‌رسد در زمان‌های قدیم یونانیان، مصری‌ها، ایرانیان و چینی‌ها از گرده خرما استفاده می‌کرده‌اند [۱].

Alian Caillas در سال ۱۹۵۹ مصرف گرده خرما را به عنوان داروی جلوگیری‌کننده از تورم پروستات پیشنهاد کرد، او مصرف روزانه ۱۵ گرم گرده را برای مردان بالاتر از ۵۰ سال توصیه می‌کند. در سوئد فرآورده‌هایی از گرده خرما به نام چرنیلتون (Tchernilton) وجود دارد که نه تنها برای بهبود بیماری پروستات مفید است، بلکه سبب پیشگیری بسیاری از بیماری‌های پروستات و آدنوم‌ها نیز می‌شود. این که کدام یک از ترکیبات گرده خرما بر این بیماری‌ها تأثیر دارد هنوز به خوبی مشخص نشده است، اما به نظر می‌رسد که عنصر روی موجود در گرده دانه خرما این اثرات را ایجاد می‌کند (افراد دارای بیماری پروستات با کمبود روی مواجه هستند) [۱].

گرده خرما با رقیق کردن خون، گردش آن را روان‌تر می‌کند و باعث بهبود قدرت فیزیکی و فکری در سال‌های

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۸۶ انجام شده است ۴۰ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰-۱۸۰ گرم که از محل خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه شده بودند مورد بررسی قرار گرفتند. حیوانات در ۵ گروه ۸ تایی در دمای ۲۵ الی ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از آب لوله‌کشی شهری و غذای مخصوص موش برای تغذیه حیوانات استفاده شد.

سیکل استروس در موش‌های صحرایی ماده ۴ تا ۵ روز طول می‌کشد. چون موش‌های صحرایی استفاده شده در این پژوهش در فازهای مختلف از سیکل استروس قرار داشتند، می‌بایستی روشی اتخاذ کرد تا همه آنها در یک فاز قرار گیرند. بدین منظور، مقدار ۱۰۰ میکروگرم استرادیول والرات در ۰/۲ میلی‌لیتر روغن زیتون حل شده و به صورت عضلانی به موش‌ها تزریق گردید. تمام تزریقات در ساعت معین و هم‌زمان انجام شدند. برای تشخیص هم‌سیکل شدن موش‌های صحرایی از تمام آنها اسمیر واژن تهیه شد. در صورتی که حیوانات مورد آزمایش هم‌سیکل نشده بودند این عمل دو تا سه مرتبه تکرار می‌شد. بعد از هم‌سیکل‌سازی موش‌ها، تا پایان دوره آزمایش، حیوانات هم‌سیکل باقی می‌ماندند [۴-۶]

برای تهیه عصاره آبی دانه گرده خرما مقادیر ۱۰، ۲۰ و ۴۰ گرم دانه گرده که از نخلستان‌های شهرستان دشتستان استان بوشهر تهیه شده بودند در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده و ۳۰ دقیقه تحت حرارت ملایم (حدود ۴۵ درجه) قرار گرفتند. سپس عصاره آبی دانه گرده صاف

شده و با سه غلظت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در لیتر استخراج شدند.

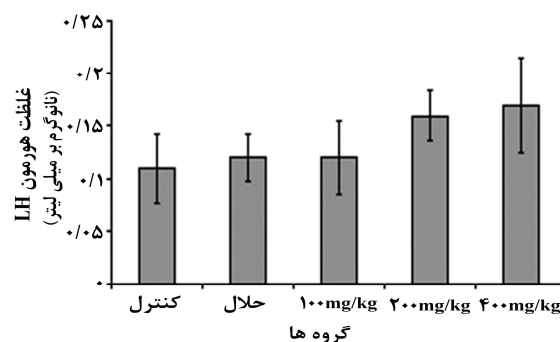
موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه کنترل (هیچ دارویی دریافت نکردند)، حلال (دریافت‌کننده حلال دارو)، گروه تجربی ۱ (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه تجربی ۲ (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه تجربی ۳ (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم‌بندی شدند [۳]. عصاره آبی دانه گرده خرما تهیه شده، به مدت ۱۴ روز به میزان یک میلی‌لیتر به موش‌های صحرایی ماده هم‌سیکل شده تزریق شد. در گروه کنترل از آب مقطر جهت تزریق استفاده گردید. تزریقات توسط سرنگ‌های انسولینی که از حساسیت خوب و قابل قبولی برخوردار بودند، انجام شد.

در پایان روز چهاردهم به منظور بررسی اثر عصاره دانه گرده خرما، حیوانات تحت بی‌هوشی با اتر قرار گرفتند و بعد از شکافتن قفسه سینه، از قلب به طور مستقیم خون‌گیری بعمل آمد. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفوژ، سرم نمونه‌ها جداسازی شد و با استفاده از روش رادیوایمونواسی میزان هورمون‌های LH، FSH، استروژن و پروژسترون اندازه‌گیری شد. کیت‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری هورمون‌های LH و FSH ساخت شرکت کاوشگر ایران، هورمون استروژن ساخت فنلاند و هورمون پروژسترون ساخت آمریکا بودند.

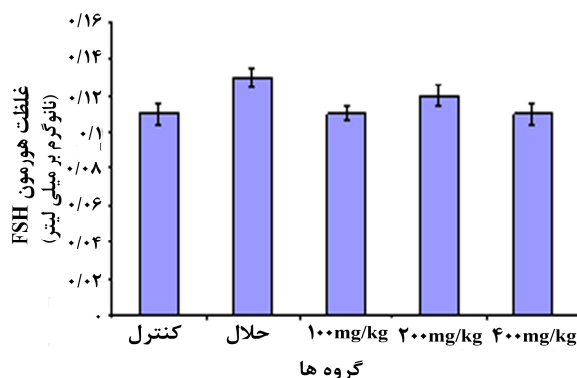
روش آماری: داده‌ها به وسیله برنامه آماری SPSS نسخه ۱۱/۵ تجزیه و تحلیل شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون آماری ANOVA و سپس آزمون توکی استفاده شد. $p < 0/05$ اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در این بررسی، میانگین غلظت هورمون‌های LH و FSH در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده مقادیر ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره نسبت به گروه‌های کنترل و حلال اختلاف معنی‌داری نشان نداده است (نمودارهای ۱ و ۲).



نمودار ۱- مقایسه میانگین غلظت سرمی هورمون LH در موش‌های ماده مورد بررسی.



نمودار ۲- مقایسه میانگین غلظت سرمی هورمون FSH در موش‌های ماده مورد بررسی.

مقایسه نتایج حاصل از میانگین غلظت هورمون‌های استروژن در گروه تجربی ۱ (۱۰۵/۲۵±۰/۶۸) نانوگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به گروه کنترل (۸۹/۸۷±۵۹/۹) نانوگرم بر میلی‌لیتر) و پروژسترون (۳۷/۵۷±۵/۸۱) نانوگرم بر میلی‌لیتر) در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه کنترل (۳۵/۶۲±۲/۱۸) نانوگرم بر میلی‌لیتر) اختلاف معنی‌داری

نشان نداد. اما میانگین غلظت هورمون استروژن در گروه ۲ (۱۳/۲۲±۱۵۶/۸۱) نانوگرم بر میلی‌لیتر) و گروه ۳ (۱۴/۴۰±۱۸۷/۴۲) نانوگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به گروه کنترل (۹/۵۹±۸۹/۸۷) نانوگرم بر میلی‌لیتر) و میانگین غلظت هورمون پروژسترون در گروه تجربی ۲ (۱۸/۴۰±۲/۱۸) نانوگرم بر میلی‌لیتر) و در گروه تجربی ۳ (۱۷/۳۴±۳/۷۱) نانوگرم بر میلی‌لیتر) نسبت به گروه کنترل (۱۸/۳۵±۲/۶۲) نانوگرم بر میلی‌لیتر) افزایش معنی‌داری را نشان داده است ($p < 0.05$).

بحث

نتایج به دست آمده نشان داده است که مقادیر مختلف عصاره دانه گرده خرما در پایان دوره زمانی ۱۴ روزه اختلاف معنی‌داری در میزان گنادوتروپین‌ها در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده مقادیر ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره نسبت به گروه کنترل نشان نداده است اما غلظت استروژن و پروژسترون در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده مقادیر ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به طور معنی‌داری افزایش داده است.

واکنش متقابل با لیگاند استروئیدی سبب شروع نسخه‌برداری ژنی اختصاصی گیرنده استروژن می‌شود و این امر منجر به پیشبرد ساخت RNAهای پیام‌بر اختصاصی می‌شود. در بین پروتئین‌های بسیاری که در اکثر سلول‌های پاسخ‌دهنده به استروژن ساخته می‌شوند، گیرنده‌های استروژنی و پروژسترونی وجود دارد و مشخص شده که سه ترکیب دانه گرده خرما به نام‌های Quercetin، β -Sitosterol و Rutin دارای فعالیت بیولوژیکی استروژن‌زایی هستند. به نظر می‌رسد که این

سه ترکیب با فعالیت‌های بیولوژیکی خود نقش مهمی در افزایش استروژن دارند یا حداقل به افزایش استروژن در سرم خونی موش‌های صحرایی کمک می‌کنند [۷]. با توجه به این نتایج، می‌توان اظهار کرد که تغییر مقدار عصاره دانه گرده خرما در بین گروه‌های تجربی احتمالاً بر میزان غلظت سرمی استرادیول اثر دارد.

با پیشرفت علم، محققین بر آن هستند که ترکیبات شیمیایی مؤثر گیاهان و اثر درمانی آنها را تشخیص دهند [۸]. گذشتگان معتقد بودند که دانه گرده خرما، دستگاه تولید مثل را تقویت می‌کند و از آن در درمان کاهش میل جنسی استفاده می‌کردند [۷].

با توجه به این که در زمینه اثرات بیولوژیکی عصاره دانه گرده خرما بر روی تولید مثل جنس ماده، اطلاعات بسیار کمی وجود دارد، تفسیر نتایج به دست آمده در زمینه اثرات عصاره دانه گرده خرما بر میزان هورمون‌های گنادوتروپین، استروژن و پروژسترون مشکل است. مشکل دیگری که در این زمینه وجود دارد فعالیت بیولوژیکی بسیار زیاد ترکیبات دانه گرده خرما است. مطالعات نشان داده است که ۵ ترکیب موجود در دانه گرده خرما حدود ۲۸۹ فعالیت بیولوژیکی دارند [۷].

نتایج حاصل از این پژوهش درباره عدم تأثیر عصاره دانه گرده خرما بر غلظت هورمون‌های FSH و LH، با نتایج مربوط به اثر دانه گرده خرما بر روی اسپرم‌سازی در موش‌های سوری نر مطابقت دارد. دانه گرده خرما بر هورمون‌های FSH و LH تأثیر چندانی نداشته ولی تأثیر آن بر هورمون تستوسترون معنی‌دار بوده است [۸].

پروژسترون در طی یک واکنش آنزیمی دو مرحله‌ای از کلسترول ساخته می‌شود. نخست در داخل میتوکندری،

کلسترول به پرگنولون تبدیل می‌شود که آنزیم سیتوکروم P450 جداکننده زنجیره جانبی کلسترول، این واکنش را کاتالیز می‌کند. پرگنولون، میتوکندری را ترک می‌کند و در شبکه آندوپلاسمی توسط آنزیم سه‌بتا‌هیدروکسی استروئید هیدروژناز به پروژسترون تبدیل می‌شود. پروژسترون ذخیره نمی‌گردد، بلکه از طریق فرآیند انتشار بلافاصله آزاد می‌شود [۹]. با وجود مقدار زیاد چربی در دانه گرده خرما و وجود آنزیم سیتوکروم P450 در یکی از ترکیبات آن به نام Quercetin، احتمالاً این آنزیم قادر است مقدار زیادی کلسترول را به پروژسترون تبدیل کند و به این طریق به افزایش معنی‌دار پروژسترون کمک نماید [۷]. هر چند در این خصوص نیاز به مطالعات بیشتری می‌باشد.

همان‌طور که گفته شد دانه گرده خرما با اثر بر روی بافت چربی با سازوکار ذکر شده، احتمالاً باعث تجزیه بافت چربی و در نتیجه افزایش اسیدهای چرب آزاد می‌شود. از طرف دیگر، دانه گرده باعث دفع آلبومین از کلیه می‌گردد [۷].

به نظر می‌رسد که با افزایش اسیدهای چرب آزاد، این اسیدهای چرب با پروژسترون در اتصال به آلبومین رقابت می‌کنند و اتصال بیشتر آنها به آلبومین، باعث افزایش پروژسترون غیرمتصل می‌شود. به علاوه، کاهش آلبومین می‌تواند منجر به افزایش پروژسترون غیرمتصل شود و در نتیجه مقدار پروژسترون پلاسما زیاد می‌گردد. به نظر می‌رسد سه ترکیب موجود در دانه گرده به نام‌های Beta-Sitosterol، Quercetin و Rutin که فعالیت بیولوژیکی استروژن‌زایی دارند نقش مهمی در افزایش

مطالعات بیشتری برای بررسی اثر دانه گرده خرما بر روی هورمون‌های جنسی لازم است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت آموزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، خانه حیوانات و آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، آزمایشگاه هماتولوژی دکتر قوامین، دانشجوین و کلیه همکارانی که در این طرح مشارکت و همکاری داشتند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

استروژن ایفا می‌کنند یا حداقل به افزایش استروژن در سرم خونی موش‌های صحرایی کمک می‌نمایند [۲،۸،۱۰].

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های این پژوهش، دانه گرده خرما غلظت استروژن و پروژسترون را به طور معنی‌داری افزایش داده اما بر میزان گنادوتروپین‌ها بی‌تأثیر بوده است.

References

- [1] Shafei Sarvestani M. Effects of phoenix dactylifera Different histological testes and Spermatogenesis in Rat BALB/C.(tees). Iran doc: Tehran University Tarbiat Moalem; 2000.
- [2] Falahi M. Stage of growth and development and package dactylifera, 1 ed. publishment barnava. 1996; p: 55.
- [3] Karima M, Hanadi A, Falwa A, Fatima N, Rokaya M, Shamma S, et al. Protective Effects of Phoenix dactylifera (Date Palm) Spermatogenesis in Rat, 1 ed. USA. 2005; 14: 332-4.
- [4] Harder Mammalian Reproduction II Estrous cycles. Gestation & Lactation, zoology. 2004; p: 625.
- [5] Marvsti HP. Effect hyper thyroids of ovulation in rate. [hand book]. Islamic Azad Univ Kazeron Branch; 1998.
- [6] Bemola J, Garside W, Analysis of the human zona pellucida during culture: J Assist Rep Gen 1997; 14: 332-4.
- [7] Hafez E. Reproduction and Breeding Techniques for laboratory animal, lea and febiger. 1980; pp: 299-316.

-
- [8] Comperaire JC. The Triggering of ovulation in stimulated cycles: HCG or LH, Volume 1. 2003; pp: 253-8. viliamz, 2 nd ed. publicment golban. 2005; pp: 95-102 .
- [9] Kaningahom H, Lono G, Blovm V, Translation DR, Ghazi Gahani B. by surveillance DR, Mansoori aghazi M, Pregnancy and parturition [10] Majd R, Amini MA. Theory condition date stat Fars office authority. *Ecology Eftat Furs*. 1999. [Farsi]

Effects of Phoenix Dactylifera on Serum Concentration of Estrogen, Progesterone and Gonadotropins in Adult Female Rats

A. Moshtaghi¹, H. Johari², M. Shariati³, J. Amiri⁴

Received: 10/01/08

Sent for Revision: 10/06/10

Received Revised Manuscript: 26/04/10

Accepted: 26/05/10

Background and Objectives: Through out the history, medicinal plants have had great importance. Date palm is a species of phoenix Dactylifera and a genus of palamse. The pollen of date palm contains five chemical compounds. Quercetin, Rutin, Beta-Amyrin, Beta-Sitosterol and Uronic –Acid. Four of these compounds have biological activities. The present study aim was to determin of the effects of date pollen on serum density of estrogen, progesterone and gonadotropin in female rats.

Materials and Methods: In this experimental study, forty female vistar rats were first classified into five groups of eight. In order to set them in the same sex cycles hormones, we used of sexy hormones. Phoenix dactylifera was given in peritoneum for 14 days. Experimentsl groups received 100, 200 and 400 mg/kg of Phoenix dactylifera. Control group received no medication, and the sham group received only distilled water. Blood samples were taken at the end of the 14 days and serum concentration of LH, FSH, Estrogen and Progesterone was measured.

Results: The results of this study showed that the serum density of LH and FSH in the experimental group was not significantly different compared to the control group. Received groups 200 & 400 mg/kg Phoenix dactylifera showed increasing the amount of Estrogen and Progesterone hormones ($p < 0.05$).

Concluation: According to the findings of this study, phoenix dactylifera increases Estrogen and Progesterone, but has no effect on the Gonadotropins.

Key words: Phoenix dactylifera, Estrogen, Progesterone, Gonadotropin, Rat

Funding: This research was funded by Islamic Azad University, Kazeron Branch.

Conflict of interest :None declare.

Ethical approval: The Ethics Committee of Islamic Azad University, Kazeron Branch approved the study.

1- MSc, Dept of Animal Biology, Islamic Azad University, Kazeron Branch, Iran

(Corresponding Author) Tel: (0771)5553220, Fax: (0771) 2533499, E-mail: 44_moshtaghi865@yahoo.com

2- Assistant Prof, Dept. of Animal Physiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Iran

3- Assistant Prof, Dept. of Biology, Islamic Azad University, Kazeron Branch, Iran

4- MSc, Dept of Biology, Member of Young Researchers Club, Islamic Azad University, Kazeron Branch, Iran