

## تاثیر فرومون (Z)-9-Tricosene بر روی اندام تولیدمثل در موش صحرائی نر نژاد ویستار

شیلا فلاح پور و شهلا روزبهانی\*

اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، گروه زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۱۱

### چکیده

تحریک بیولوژیکی و ارتباط فرومونی، یک نقش مهم را در فرایندهای تولیدمثل در رفتار پستانداران بازی می‌کند. فرومون‌ها در ادار، مدفوع یا از غدد جلدی می‌توانند از طریق سیستم بویایی درک شوند تا هم واکنش‌های درون ریز و هم واکنش‌های رفتاری را برانگیزانند. بر همین اساس هدف از این مطالعه بررسی اثر فرومون (Z)-9-Tricosene با غلظت‌های مختلف بر میزان تعداد سلولهای اسپرماتوگونی، تعداد سلولهای اسپرماتوسیت اولیه، تعداد سلولهای لایدیگ، قطر لوله‌ی اپیدیدیم و ضخامت غشا لوله‌ی اسپرم ساز در موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار بود. در این مطالعه از ۴ گروه آزمایشی شامل سه گروه تیمار و یک گروه کنترل استفاده شد. گروه تیمار به ترتیب در شرایط طبیعی آب و غذای معمولی و تزریق 1ml از سه غلظت مختلف فرومون یعنی ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم قرار گرفت و گروه شاهد تحت تزریق 1ml آب مقطر قرار داشت. ۲۸ تزریق فرومون مذکور به مدت ۸ هفته، یک روز در میان انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد پس از تیمار با فرومون جنسی (Z)-9-Tricosene اختلاف معنی‌داری میان میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوسیت اولیه و تعداد سلولهای لایدیگ بین چهار گروه مورد بررسی مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ). بنابراین غلظت‌های مختلف فرومون تاثیر قابل توجهی بر میزان تعداد سلولهای اسپرماتوسیت و لایدیگ داشت اما بر سایر متغیرها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). در واقع غلظت‌های مختلف ماده‌ی فرومون تاثیر قابل توجهی بر میزان اسپرماتوگونی، ضخامت غشا لوله‌ی اسپرم ساز و قطر لوله‌ی اپیدیدیم نداشت.

واژه‌های کلیدی: فرومون، (Z)-9-Tricosene، اسپرماتوژنز، رت نر، اندام تولیدمثلی.

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱۳۷۴۲۰۱۳۶، پست الکترونیکی: Roozbehani@iaufala.ac.ir

### مقدمه

سایر جانوران از فیزیولوژی رفتارهای تولیدمثلی برای جفتگیری استفاده می‌کنند تا احتمال بارورسازی موفق را افزایش دهند. برخی از گونه‌ها دارای جفت‌گیری کاذب بوده و با ثابت نگه داشتن خود اسپرم‌ها را بطور همزمان آزاد می‌کنند تا احتمال بارورسازی را به حداکثر برسانند (بعنوان نمونه دوزیستان). گونه‌های دیگر از اندام‌های جفت‌گیری به اشکال مختلف استفاده می‌کنند که معمولاً در جنس نر وجود دارد. سلول‌های لایدیگ و سرتولی (Leydig and sertoli cells) اسپرماتوژنز را کنترل می‌کنند. محل تولید اسپرماتوزوئیدها درون لوله‌ی اسپرم ساز می‌باشد بطوریکه اسپرم‌های در حال تکوین و سرتولی

فیزیولوژی دستگاه تولیدمثل در جنس نر به گونه‌ای طراحی شده است که هنگامی که اسپرم‌ها برای بارور کردن تخمک آماده باشند، نر فعالیتی انجام می‌دهد که موجب نزدیکی گامت‌ها به هم شود. هنگامی که جفت‌ها مشخص شدند نرها باید بتوانند اسپرم‌هایی را که برای حرکت به سمت تخمک و بارور ساختن آن جهت آغاز رشد و نمو آماده هستند، آزاد کنند. تنوع قابل توجهی در مکانیسم‌های رسیدن اسپرم‌ها به تخمک وجود دارد. برخی از گونه‌ها تعداد زیادی گامت تولید می‌کنند و آنها را به محیط آبی آزاد می‌کنند که تعداد کمی از اسپرم‌ها موفق به بارور ساختن تخمکها می‌شوند.

تشخیص مواد شیمیایی در پستانداران توسط حس بویایی (تشخیص بوها در فرمون‌ها) و حس چشایی (درک چشایی) انجام می‌شود.

بررسی‌ها نشان داده که فرمون‌های اولیه در تولیدمثل پستانداران به ویژه جوندگان از طریق محرک‌های شیمیایی دخیل هستند که اثرات فیزیولوژیک دارند (۱۹).

تحریک زیستی عبارتی است که اثر محرک یک مذکر بر استرس و تخم‌گذاری از طریق تحریک موضع جنسی، فرمون‌های اولیه یا دیگر علائم خارجی خوب تعیین شده را شرح دهد (۱۲).

در مگس خانگی، (Z)-9-Tricosene (Z) بعنوان یک فرمون جنسی شناسایی گردیده است. این فرمون علاوه بر کوتیکول در فضولات مگس هم مشاهده شده است که باعث جلب جنس نر می‌شود. فرمون جنسی مگس ماده شامل (Z)-9-Tricosene (۱۳)، مجموعه‌ای از C28-C30 methylalkanes (۲۵) است که موجب افزایش فعالیت (Z)-9-Tricosene (۳۱ و ۳۴)، (Z)-9-10-Epoxytricosane و (Z)-14-tricosen-10-one می‌شود (۳۵). بیوسنتز اجزای هیدروکربنی فرمون گزارش شده است (۱۶ و ۱۵). داده‌ها نشان می‌دهد که (Z)-9-Tricosene و آلکانهای شاخه‌ای توسط افزایش طول و دکربوکسیلاسیون پیش‌سازهای شاخه‌ای (Branched precursors) اشباع نشده و متیل شکل گرفته است. مگس‌های ماده تولید فرمون را در حدود دو روز بعد از ظهور و پیدایش آغاز می‌کنند و این همزمان با آغاز زرده سازی (Vitellogenesis) و جفت‌گیری است (۹ و ۱۷). ارزیابی‌های میدانی نشان داده‌اند که (Z)-9-Tricosene فعالترین ترکیب است (۳). (Z)-9-Tricosene جذب‌کننده، که معمولاً تحت نام یکنوع فرمون جنسی سنتز شده برای جذب مگس خانگی ماده (Muscalure: A synthetic sex pheromone eliciting attraction of the female housefly, *Musca domestica*) نامیده می‌شود، در حال حاضر به عنوان یک عامل کنترل آفات بیوشیمیایی برای

درون این لوله‌ها قابل رویت‌اند. سلول‌های لیدینگ سلول‌های بینابینی هستند که در سمت غشای پایه در خارج از لوله‌ها قرار دارند. آنها با تولید تستوسترون اسپرماتوژنز را کنترل می‌کنند. سلول‌های سرتولی سلول‌های بزرگی هستند که فواصل بین ستون‌های سلول‌های سازنده‌ی اسپرم را پر می‌کنند (۲).

سیگنال‌های شیمیایی در جوندگان ابتدا بوسیله دو مسیر عصبی جداگانه دریافت می‌شوند. اپی‌تلیوم بویایی در پیاز بویایی اصلی وجود دارد و بطور کلی دامنه وسیعی از گیرنده‌های فرار را تشخیص می‌دهد. در مقایسه اندام حفره بینی (VNO= Vomeronasal Organ) برای پیاز بویایی کمکی (AOB= Accessory Olfactory Bulb) وجود دارد و ممکن است هر دو علامت شیمیایی فرار و غیر فرار را بیابد که اطلاعاتی درباره وضعیت جنسی و اجتماعی ارائه می‌دهد (۳۰). واژه فرمون ریشه در کلمات یونانی Pheran یعنی انتقال و Horman یعنی تحریک دارد. آنها مولکول‌های شیمیایی آزاد شده در انسانها، حشرات و حیوانات هستند که باعث واکنش یا فراخوانی رفتاری خاص و یا تغییرات هورمونی در جنس مخالف، یا جنس مشابه و یا هر دو جنس از همان گونه می‌شود. این مولکول‌های سیگنال‌دهنده در مایعات بدن مانند ادرار، عرق، غدد برون ریز تخصصی و ترشحات مخاطی دستگاه تناسلی موجود می‌باشند (۲۳ و ۳۳).

فرمون‌ها به دو دسته تقسیم می‌شوند: (الف) فرمون‌های آزادکننده که سبب تغییرات کوتاه مدت رفتاری می‌شوند و به عنوان جذب‌کننده یا مواد دافع عمل می‌کنند (ب) فرمون‌های پرایمر که سبب تغییرات طولانی مدت در رفتار و یا توسعه از طریق فعال کردن محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA= Hypothalamic Pituitary Adrenocortical Axis) موثر بر سیستم عصبی و سیستم غدد درون ریز یا مترشحه‌ی داخلی بدلیل اینکه در ارتباط با مرکز پاسخ به استرس می‌باشد) می‌شود (۲۴).

کاربرد از فرومون و تاثیر و دخالت تعداد سلولهای جنسی در کیفیت باروری و بمنظور کمک گرفتن از خواص فرومون ها در این زمینه، تحقیق حاضر با هدف مطالعه چگونگی تاثیر فرومون ها بر پارامترهای تولیدمثلی در موش صحرایی انجام شد.

### مواد و روشها

تعداد ۴۴ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار نابالغ از اتاق حیوانات تهیه و بمدت یک هفته در شرایط نور و دمای مناسب آزمایشگاه نگهداری و پس از سنجش وزن آنها سپس به چهار گروه شامل گروه های :

A : دریافت کننده غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن

B : دریافت کننده غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن

C : دریافت کننده غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن

D: گروه شاهد دریافت کننده آب مقطر تقسیم شدند. گروه تیمار و شاهد بمدت ۸ هفته بصورت یک در میان غلظت های تعریف شده از فرومون و آب مقطر را بصورت تزریق درون صفاقی و به میزان 1ml در هر تزریق دریافت کردند (شکل ۲).

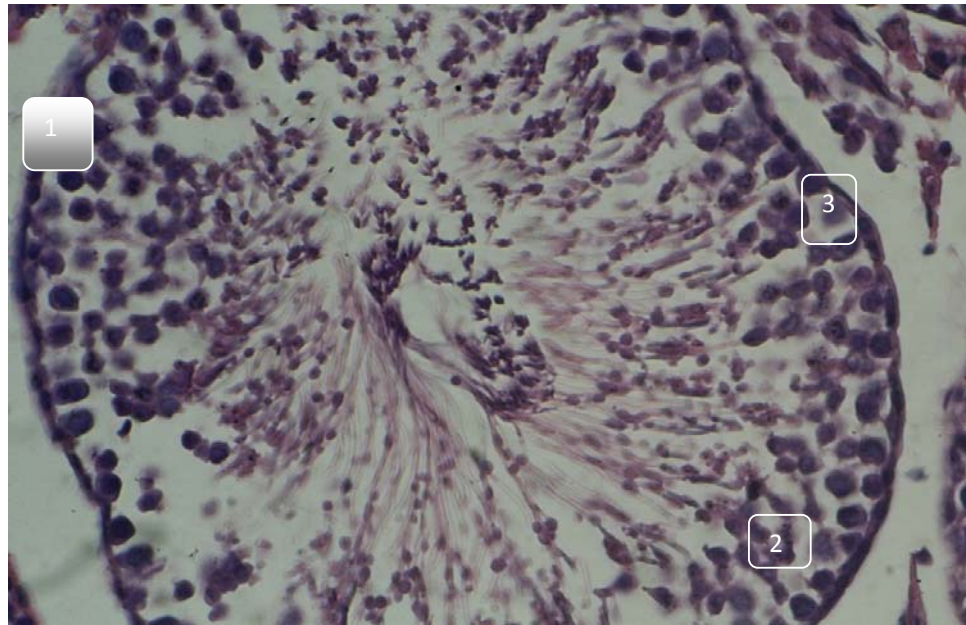
**روش تهیه غلظت های مورد نظر از فرومون:** پس از سنجش وزن موشها، میانگین وزن آنها بدست آمد. به منظور تهیه ی غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم از فرومون جهت تزریق به حیوانات مورد نظر بترتیب مقادیر ۱۴ و ۲۸ و ۴۲ میکرولیتر از فرومون را با سمپلر جدا و هر یک از مقادیر در 1ml آب مقطر حل گردید. به موشهای نر بالغ به مدت دو ماه هر روز میزان 1ml از غلظت تهیه شده تزریق گردید. در پایان دوره فوق از موشهای مورد تیمار بمنظور سنجش میزان هورمونهای جنسی نر خونگیری از قلب آنها بعمل آمد. سپس نمونه

رها شدن از شر مگس های خانگی، مگسهای پایدار، پشه چشم (*Eye gnats*) و مگس های اسبی (*Horse flies*) به کار می رود (۴). با توجه به اهمیت قابل توجه این فرومون جنسی در مدیریت آفات مبتنی بر محیط زیست، مصرف کافی از یک ترکیب اقتصادی مطلوب می باشد.

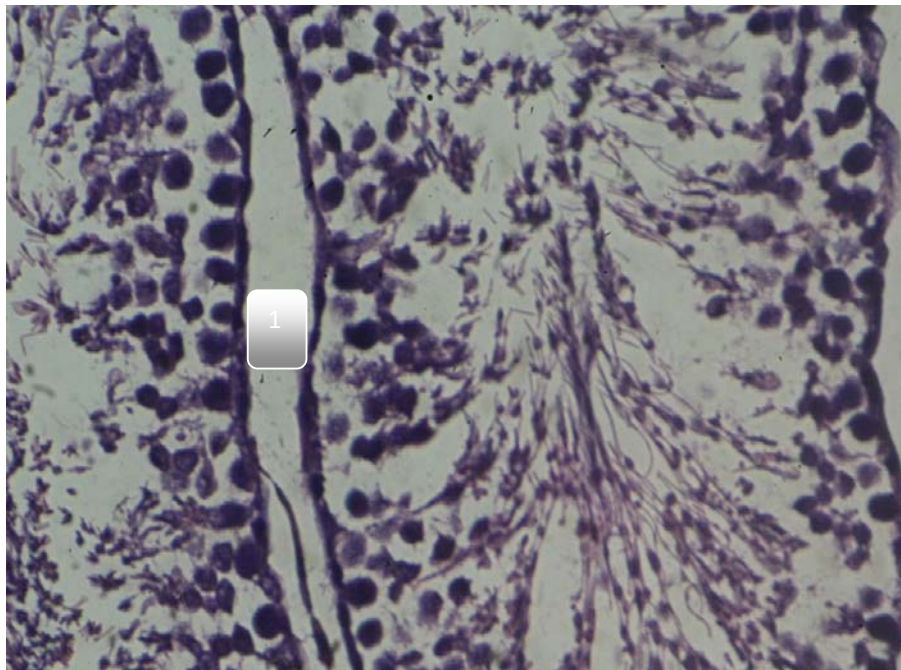
کیکوسوی و همکاران در سال ۲۰۰۱، در تحقیقی با عنوان فرومون هشدار دهنده که سبب افزایش هیپرترمی ناشی از استرس در موش های صحرایی می شود به این نتیجه رسیدند که موش های نر وقتی در معرض بوهای منتشره از سمت همنوع خود قرار گرفتند، افزایش پروتئین در لایه سلولهای میترا ل غده بویایی همراه با پاسخ هشیاری رفتار فیزیولوژیک از خود نشان دادند (۲۲). نتایج روبرسون و همکارانش (۲۹) نیز با مشاهدات ایزارد و وندنبرگ (۱۸) سازگاری دارد و بیشتر از این فرضیه حمایت می کند که ارتباطات اجتماعی بین گاوهای نر وگوساله های ماده پیش از بلوغ، منجر به کاهش سن رسیدن به بلوغ می شوند. جانز (۲۰) این فرضیه را ارائه کرد که فرومون های اولیه با کمک سیستم بویایی روی عملکرد تخمک گذاری تاثیر می گذارند.

با وجود تحقیقات گسترده، هنوز ماهیت دقیق شیمیایی سیگنال های بویایی که می تواند رفتار موش را تحت تاثیر قرار دهد، مشخص نیست. مدارک قابل توجهی نشان می دهد که غلظت های مختلف فرومون با پارامترهای اسپرماتوزن، تعداد سلولهای جنسی، بافتهای مرتبط با اسپرماتوزن و میزان و درصد قابلیت زیست و قدرت تحرک اسپرم ارتباط معنی داری دارد. لذا با توجه به بررسی تاثیر فرومون 9-Tricosene-(Z) بر میزان اسپرماتوزن و ساختار بافتی دستگاه تولیدمثل و پارامترهای سلولی بافتی مرتبط با تولیدمثل در موش صحرایی نر و بررسی کارایی فرومون 9-Tricosene-(Z) در بلوغ جنسی موش صحرایی و بررسی تاثیر میزان غلظت موثر فرومون در مطالعات زیست شناسی و دست یابی به غلظت موثر و

های خون به آزمایشگاه تشخیص طبی جهت سنجش میزان هورمونهای جنسی انتقال داده شدند.



شکل ۱- مقطع عرضی بافت بیضه در رت (موش صحرائی) نر در غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن از فرمون (Z)-9-Tricosene. ۱: اسپرماتوسیت اولیه ۲: اسپرماتوگونی ۳: ضخامت غشا لوله ی اسپرم، (هماتوکسیلین، اتوزین). بزرگنمایی ۴۰۰×



شکل ۲- مقطع عرضی بافت اپیدیدیم در رت (موش صحرائی) نر در گروه کنترل در لام D2. ۱: ضخامت دیواره اپیدیدیم، (هماتوکسیلین، اتوزین). بزرگنمایی ۴۰۰×

تشریح حیوانات: ابتدا موشها با محلول کتامین ۱۰ درصد بیهوش شدند و سپس از قلب حیوانات خونگیری بعمل آمد. در ادامه با باز نمودن حفره شکمی، بیضه و اپیدیدیم خارج و وزن شدند و وزن آنها در هر موش با ترازو اندازه

**تعداد سلولهای لایدیگ:** با استفاده از برشهای میکروسکوپی بیضه‌ها با بزرگنمایی  $400\times$  این سلولها در پنج نقطه از بافت مورد شمارش قرار گرفته و میانگین کل محاسبه گردید.

**روشهای آماری - روش تجزیه تحلیل داده‌ها:** داده‌های حاصله از این مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS20 و آنالیز ANOVA و آزمون دانکن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

### نتایج

نتایج بدست آمده از تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از این مطالعه را می‌توان بطور خلاصه در جدول و نمودارهای زیر مشاهده کرد:

الف) نتایج میزان تاثیر فرومون بر تعداد سلولهای جنسی و بر تغییرات بافتی دستگاه تولیدمثل موش‌ها.

بمنظور مقایسه متغیرها در چهار گروه مورد بررسی با فرض طبیعی بودن توزیع آن در هر گروه، آزمون آنالیز واریانس یکطرفه استفاده شد که نتیجه آن در جدول‌های ۱ و ۲ شرح داده شده است.

گرفته شد و میانگین وزن آنها در هر گروه تعیین گردید. از بافت بیضه برای شمارش اسپرم‌ها اسمیر تهیه سپس برای برش‌گیری آماده شدند.

**نحوه آماده سازی بافت (هیستوتکنیک):** به کلیه مراحل که بر روی یک نمونه ی بافتی صورت می‌گیرد تا آنرا برای مشاهده میکروسکوپی آماده سازد، هیستوتکنیک گفته می‌شود که شامل فیکس کردن، نمونه برداری، آبگیری، شفاف سازی و آغشته سازی، قالب گیری، برش گیری، پارافین گیری و رنگ آمیزی و مونتاژ است.

شمارش سلولهای جنسی شامل سلولهای اسپرماتوسیت اولیه و سلولهای اسپرماتوگونی (سلول اسپرماتوسیت یک سلول جنسی نر نابالغ است. اسپرماتوسیت اولیه از اسپرماتوگونی در طی میوز تکامل می‌یابد تا ۴ اسپرماتید را ایجاد نماید): جهت شمارش اسپرم از مایع اسپرمی که از بیضه‌ها گرفته می‌شود اسمیر تهیه و با استفاده از لام نوبار شمارش سلولی صورت می‌گیرد. برای شمارش اسپرماتوسیت اولیه پس از تهیه ی برش‌های بافتی از بیضه‌ها با استفاده از بزرگنمایی  $400\times$  سلولهای موجود درون لوله‌های اسپرم‌ساز که بطور تصادفی انتخاب شده‌اند، مورد شمارش قرار می‌گیرند. شمارش حداقل در پنج نقطه از برش صورت گرفته و میانگین کل سلولها در هر گروه محاسبه گردید.

جدول ۱- نتیجه آزمون آنالیز واریانس در مقایسه میانگین متغیرها بین گروه‌های مورد بررسی

متغیر	منبع تغییر	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	آماره آزمون (F)	p-value
تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت	بین گروهی	۱۶۹/۹۷۸	۳	۶۵۹/۵۶	۹۲۹/۲	۰/۰۳۴
	داخل گروهی	۳۴۰۴/۲۲۲	۱۷۶	۱۹/۳۴۲		
	خطا	۳۵۷۴/۲۰۰	۱۷۹			
تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی	بین گروهی	۴/۰۴۴	۳	۱/۳۴۸	۰/۲۵۰	۰/۸۶۱
	داخل گروهی	۹۴۹/۲۰۰	۱۷۶	۵/۳۹۳		
	خطا	۹۵۳/۲۴۴	۱۷۹			
قطر لوله اپیدیم	بین گروهی	۲۰۷	۳	۰/۶۹	۰/۵۵۳	۰/۶۶۳
	داخل گروهی	۲۵/۳۲۷	۱۹۶	۰/۱۲۹		
	خطا	۲۵/۵۳۴	۱۹۹			

جدول ۲- نتیجه آزمون ولج در مقایسه میانگین متغیرها بین گروه‌های مورد بررسی

متغیر	آماره ولج	درجه آزادی ۱	درجه آزادی ۲	p-value
لایدیگ	۴/۳۷۵	۳	۹۵/۴۴۸	۰/۰۰۶
ضخامت غشا لوله اسپرم	۲/۴۸۶	۳	۷۲/۵۷۹	۰/۰۶۷
تعداد سلول‌های اسپرم	۳/۰۷۷	۳	۲۰/۹۸۷	۰/۰۴



نمودار ۱- مقایسه میانگین سلولهای اسپرماتوسیت در تیمارهای مورد آزمون با غلظت‌های مختلف فرومون

نتایج نشان می‌دهد میانگین سلولهای اسپرماتوسیت در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن با میانگین این متغیر در گروه کنترل و غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن اختلاف معناداری داشت ( $P < 0.05$ ). \* اختلاف با شاهد معنی دار است.

روی ضخامت غشا لوله‌ی اسپرم ساز، قطر لوله اپیدیدیم و تعداد سلولهای اسپرماتوگونی تاثیر قابل توجه نداشت و اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در واقع غلظت‌های مختلف فرومون تاثیر قابل توجهی بر میزان این متغیرها ندارد. بر اساس نتایج جدولها، اختلاف معنی داری بین میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوسیت، لایدیگ و تعداد سلولهای اسپرم بین چهار گروه مورد بررسی مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). میانگین متغیر سلولهای اسپرماتوسیت در تیمار با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم این متغیر در گروه کنترل و تیمارهای غلظت ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم اختلاف معنی داری داشت ( $P < 0.05$ ). میانگین متغیر سلولهای لایدیگ نیز در گروه کنترل با میانگین این

بر اساس نتایج جدول، اختلاف معنی داری بین میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوسیت، سلولهای لایدیگ و تعداد سلولهای اسپرم بین چهار گروه مورد بررسی مشاهده شد ( $p < 0.05$ ). بنابراین غلظت‌های مختلف فرومون تاثیر قابل توجهی بر میزان سلولهای اسپرماتوسیت، تعداد سلولهای لایدیگ و تعداد سلولهای اسپرم دارد.

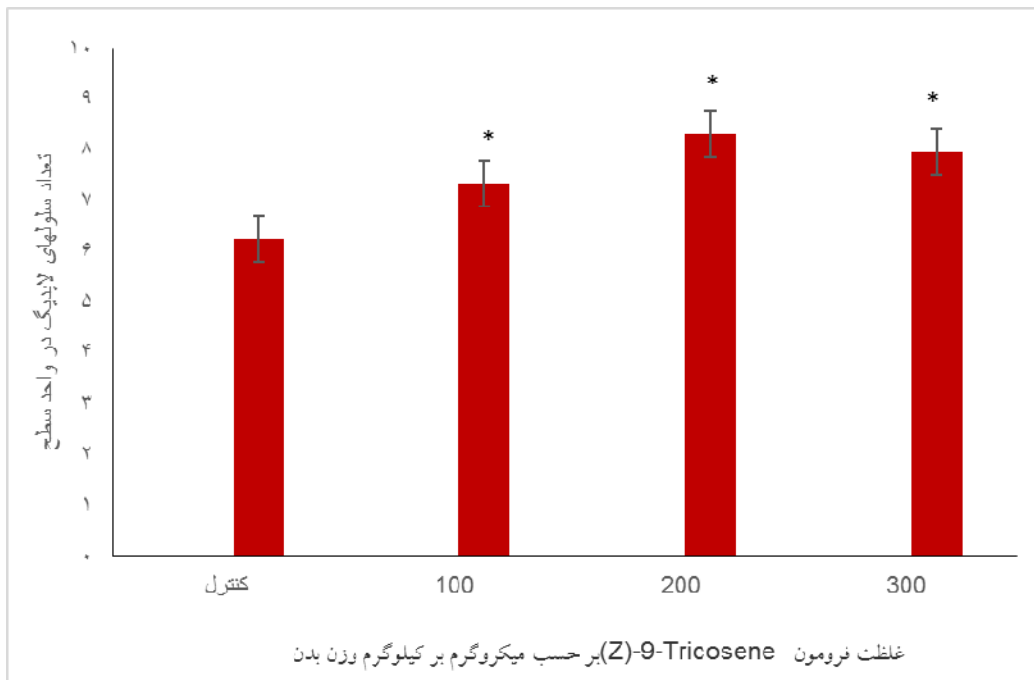
## بحث

نتایج بدست آمده در مطالعه‌ی حاضر، نشان دهنده‌ی این مطلبند که غلظت‌های مختلف فرومون 9-Tricosene (Z) تاثیر نسبتاً قابل توجهی بر تعداد سلولهای اسپرماتوسیت، سلولهای لایدیگ و تعداد سلولهای اسپرم داشت ولی بر

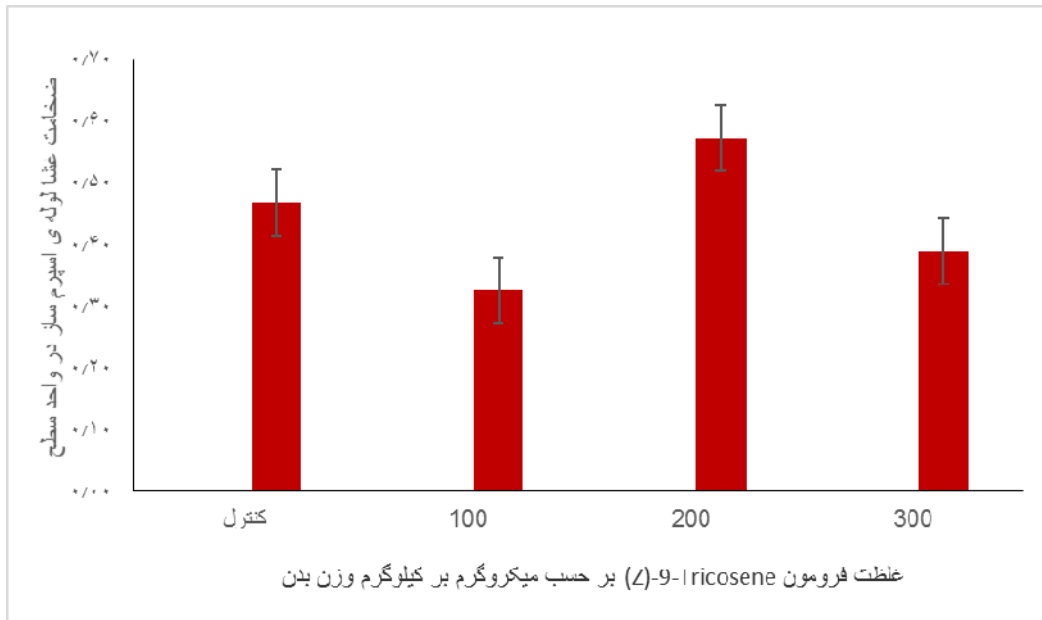
متغیر در تیمارهای با غلظت ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ).



نمودار ۲- مقایسه میانگین سلولهای اسپرماتوگونی در تیمارهای مورد آزمون با غلظت‌های مختلف فرومون. هیچ‌یک از گروه‌ها نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهند.



نمودار ۳- مقایسه میانگین سلولهای لایپیدگ در تیمارهای مورد آزمون با غلظت‌های مختلف فرومون. میانگین سلولهای لایپیدگ در گروه کنترل با میانگین این متغیر در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن اختلاف معناداری داشت ( $P < 0.05$ ).  
\*: اختلاف با شاهد معنی‌دار است.



نمودار ۴- مقایسه میانگین ضخامت عشا لوله‌ی اسپرم ساز در تیمارهای مورد آزمون با غلظت‌های مختلف فرومون. هیچ یک از گروه‌ها نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهند.



نمودار ۵- مقایسه میانگین قطر لوله‌ی اپیدیم در تیمارهای مورد آزمون با غلظت‌های مختلف فرومون هیچ یک از گروه‌ها نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نمی‌دهند.

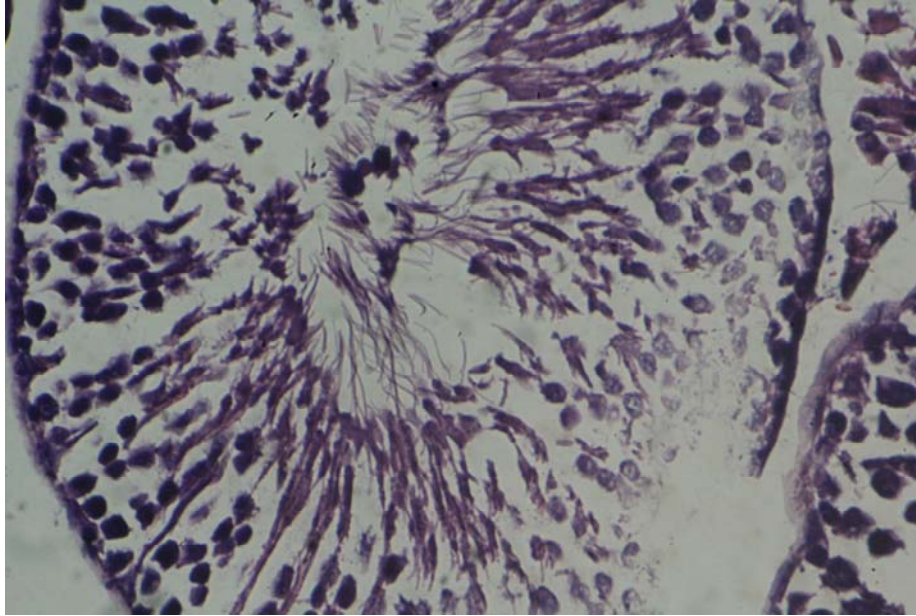
آنها نیز کاهش پیدا می‌کند. پس می‌توان نتیجه گرفت که فرومون 9-Tricosene (Z) باعث کاهش سلولهای اسپرماتوگونی خصوصا در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم از فرومون مذکور می‌گردد. در این مطالعه، سلولهای اسپرماتوسیت اولیه و سلولهای اسپرم در

نتایج تحلیل آماری در این تحقیق نشان می‌دهد که سلولهای اسپرماتوگونی در گروه‌های با غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) پیدا کرده است. درحالت طبیعی در اثر کاهش این سلولها، سایر سلولهای حاصل از

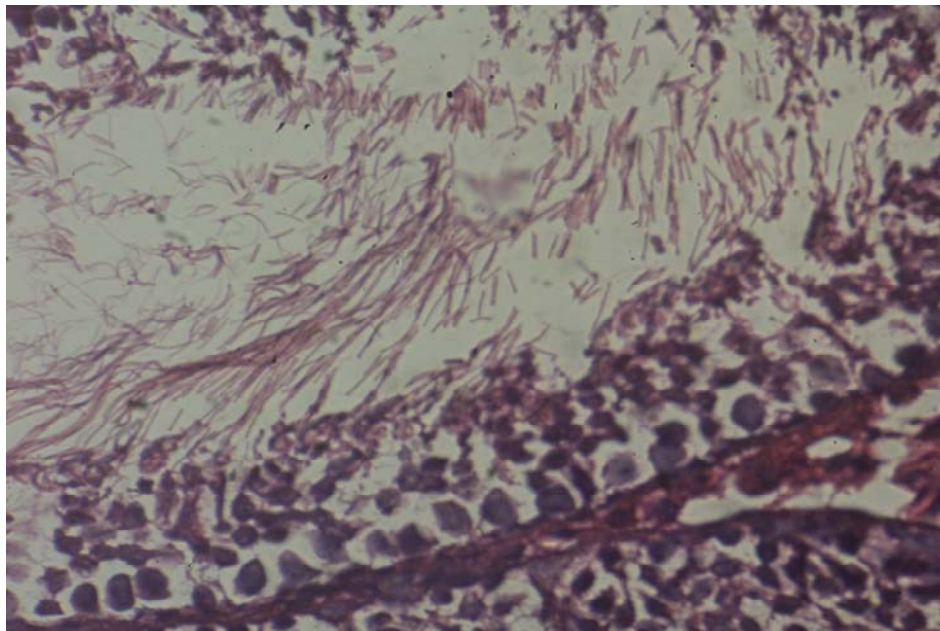


سیتوپلاسمی بین سلولی، قادرند در طی اسپرماتوزن تمایز نیز پیدا کنند، تحقیقات انجام شده روی این سلولها نشان می دهد که فقط سلولهای دختر متصل بهم قادرند در اثر تقسیمات منظم در نهایت تبدیل به اسپرم شوند (۱۱).

غلظت ۲۰۰ میکروگرم در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری را نشان داد. از آنجا که اسپرماتوگونی ها با تقسیم میتوزی قادرند تبدیل به دو سلول دختر غیر متصل و یا دو سلول دختر متصل بهم شوند. این جمعیت های سلولی قادرند تقسیم شوند و درحالت اتصال توسط پلهای



شکل ۳- مقطع عرضی بافت بیضه در رت (موش صحرائی) نر در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن از فرومون 9-Tricosene (Z).  
(هماتوکسیلین، اتوزین). بزرگنمایی ۴۰۰×



شکل ۴- مقطع عرضی بافت اپیدیدیم در رت (موش صحرائی) نر در غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن از فرومون 9-Tricosene (Z).  
(هماتوکسیلین، اتوزین). بزرگنمایی ۴۰۰×

رده های سلولهای اسپرم ساز را می توان انتظار داشت (۲۷). در دوز بالای فرومون (Z)-9-Tricosene خصوصاً در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم از این فرومون افزایش چرخه ی سلولی و افزایش تقسیم میتوزی را داریم. همچنین در دراز مدت، وزن اندام های جنسی مانند پروستات، کیسه ی منی و بیضه نیز افزایش پیدا می کنند (۸). نتایج به دست آمده از مطالعه خاکی و همکاران در سال ۱۳۸۷ در موش صحرایی نیز با بررسی اثرات پیاز و زنجبیل بر روی اسپرماتوزن مشخص شد که میزان و درصد قابلیت زیست و قدرت تحرک اسپرم در تمامی گروه های تحت مطالعه در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری داشت (۶).

بررسی سلولهای لایدیگ نشان داد که میانگین آنها در گروه کنترل  $6/27 \pm 2/25$  میکروگرم در میلی لیتر و در گروه B با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم،  $8/33 \pm 4/15$  میکروگرم در میلی لیتر بود و در گروه C با غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم،  $7/96 \pm 3/38$  میکروگرم در میلی لیتر بود ( $P < 0.05$ ) ( نمودار ۳). میانگین تعداد سلولهای اسپرماتوسیت اولیه در گروه کنترل  $10/49 \pm 4/95$  و در گروه A با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم،  $12/53 \pm 4/63$  بود که اختلاف بین دو گروه از نظر آماری معنی دار بود ( $P < 0.05$ ) ( نمودار ۱).

افزایش سلولهای اسپرماتوسیت اولیه و اسپرماتید یا اسپرم ها در نتیجه افزایش سلولهای اسپرماتوگونی نوع B در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم ماده فرومون (Z)-9-Tricosene می باشد. میانگین سلولهای اسپرماتوگونی در گروه کنترل،  $5/24 \pm 2/19$  میکروگرم در میلی لیتر بود و در گروه B با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم،  $5/22 \pm 2/57$  میکروگرم در میلی لیتر و در گروه C با غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم،  $5/04 \pm 2/15$  میکروگرم در میلی لیتر بود که کاهش معنی داری را در این دو غلظت نشان می دهد. بررسی سلولهای اسپرم نشان داد که میانگین آنها

نتایج تحقیقات دیگر نشان می دهد که نوع اسپرم استفاده شده می تواند بر مرفولوژی و درجه زیگوت های دو پیش هسته ای تاثیر داشته باشد. نوع دو پیش هسته تشکیل شده می تواند با کیفیت جنین های حاصله مرتبط باشد. بنابراین در مواردی که کیفیت اسپرم پایین باشد باید در انتخاب اسپرم با مرفولوژی بهتر دقت بیشتری شود. بعد از لقاح، پیش هسته ها یک حالت تعدادشان کاهش می یابد، و هستک ها بزرگتر شده و در امتداد سطح آرایش درون سیتوپلاسم را نشان می دهد (۱). در فازهای اولیه از تکوین پیش هسته ای، هستک ها کوچک، فراوان هستند و به طور تصادفی درون پیش هسته ها توزیع شده اند. با گذشت زمان تعدادشان کاهش می یابد، و هستک ها بزرگتر شده و در امتداد سطح آرایش می یابند و تحت عنوان حالت قطبی شده نامیده می شود (۳۲). بر این پایه می توان بیان داشت، اسپرم هایی با پارامترهای متفاوت مرفولوژیکی و حرکتی ممکن است دارای نقایص کیفی و کمی متفاوتی باشد که متعاقباً بر کیفیت زیگوت و جنین تاثیر می گذارد. ضمن اینکه بر اساس مطالعه ای که توسط فتاحی و همکاران نیز در سال ۱۳۸۶ بر روی موش سفید کوچک انجام شد، مشخص شد که تزریق طولانی مدت دیازینون (فرومون)، باعث کاهش تعداد اسپرماتوگونی ها، تعداد عروق خونی، قطر لوله های اسپرم ساز و قطر بیضه می شود (۷). پس به نظر می رسد در پستانداران فرومون باعث کاهش تعداد سلولهای اسپرماتوگونی و قطر لوله ی اسپرم ساز می شود که تحقیق حاضر را تایید می کند.

نتایج حاصل از تزریق فرومون (Z)-9-Tricosene در غلظت های مختلف آشکار می سازد که ممکن است فرومون مذکور مستقیماً بر روی بافتها و سلولهای جنسی اثر گذاشته و سبب روند فرایند اسپرماتوزنزیس شود. مطالعه ما تا حدودی بیانگر افزایش رده های مختلف سلولی است. در این میان سلولهای لایدیگ باعث افزایش هورمون تستوسترون می شود، با توجه به نقش این هورمون برای بقا و حیات سلولهای اسپرماتوژنیک، افزایش

توسین، پپتیدهای مشتق از POMC (پروپوملانوکورتین) مثل  $\beta$ -اندورفینها و MSH، پروستاگلاندین، لوکوترین، Activin و استروئیدهای دیگر را ترشح می‌کنند. همچنین گزارش‌هایی موجود است مبنی بر اینکه سلولهای لایدیگ بعنوان سلولهای هدف فاکتورهای مختلفی از جمله وازوپرسین، اینترلوکین-۱ (IGF) و فاکتورهای محرک سلولی سرتولی می‌باشد. بنابراین، افزایش سلولهای لایدیگ، هم باعث روند ترشح تستوسترون (مهمترین هورمون جنسی) و هم باعث افزایش در بسیاری از عملکردهای دیگر بیضه می‌شود. گزارش‌های موجود حاکی از این است که روند اسپرماتوزن به یکسری تداخل سلول به سلول بستگی دارد (۲۶ و ۷). پس می‌توان نتیجه گرفت فرومون 9-Tricosene (Z) باعث افزایش معنی دار سلولهای لایدیگ می‌شود، این افزایش در هر سه غلظت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم از فرومون مذکور مشاهده گردید. نتایج حاصل از مطالعه ی آقای وندن هرک و رزینک در سال ۱۹۹۲ نیز در مورد ماهی استخوانی، مطالعات بافتی آنزیمی و وجود مکانهای تولیدی گلکورونید استروئید و سلولهای بینابینی لایدیگ را آشکار ساخت (۳۶) در این میان می‌توان به تداخل عمل سلولهای لایدیگ و سرتولی اشاره نمود که افزایش سلولها سبب افزایش روند سلولهای بنیادی می‌گردد. همچنین تحقیقاتی که توسط Verhoeren در سال ۲۰۰۳ انجام شد، بیانگر این مساله است که لوله های منی ساز عملکرد ترشحي تعداد و تمایز سلولهای لایدیگ را کنترل می‌کنند (۳۷).

با توجه به تحقیقات انجام شده که نشان دهنده ی ارتباط بسیار نزدیک بین عملکرد سلولهای لایدیگ و سلولهای جنسی در لوله های منی ساز می باشد و همچنین با توجه به اینکه تمایز و ترشحات سلولهای لایدیگ توسط لوله های منی ساز کنترل می شود و بر اساس اینکه عمل تکثیر سلولهای زاینده در لوله های اسپرم ساز بوسیله ی سلولهای لایدیگ کنترل می شود، می توان پذیرفت که بطور کلی فرومون 9-Tricosene (Z) اثر تشدید کنندگی بر روی

در گروه کنترل،  $24/78 \pm 3/81$  میکروگرم در میلی لیتر بود و در گروه A با غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم،  $32/73 \pm 11/52$  میکروگرم در میلی لیتر و در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم،  $26/10 \pm 7/65$  میکروگرم در میلی لیتر و در غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم،  $30/10 \pm 7/05$  میکروگرم در میلی لیتر بود ( $P < 0.05$ ). نتایج بدست آمده از مطالعه های آقای کانیموژی در سال ۲۰۱۴ در مورد همستر، نشان داد که دوزهای بالای از TBT (Tributyltin) سبب کاهش سطوح طبیعی اسپرم شد. (۲۱). که اثر فرومون 9-Tricosene (Z) کاملاً در جهت عکس این ماده بود و باعث افزایش قطر سلولهای ژرمینال و افزایش روند تولید اسپرم ها شد ولی ضخامت غشا لوله ی اسپرم ساز در دو غلظت ۱۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم کاهش معنی داری مشاهده شد چرا که میانگین ضخامت غشا لوله ی اسپرم ساز در گروه کنترل،  $4678/0 \pm 0/42$  میکروگرم در میلی لیتر و در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم،  $3256/0 \pm 0/35$  میکروگرم بر کیلوگرم،  $0/5731 \pm 0/42$  میکروگرم در میلی لیتر بود که با اینکه در این غلظت اختلافی را نشان داد اما بطور کلی از نظر آماری معنی دار نبود. بررسی قطر لوله ی اپیدییم نیز نشان داد که میانگین آنها در گروه کنترل،  $0/7072 \pm 0/38$  میکروگرم در میلی لیتر و در گروه B با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم،  $0/6948 \pm 0/34$  میکروگرم در میلی لیتر بود که این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود (نمودار ۵).

نتایج حاصل از تزریق فرومون 9-Tricosene (Z) در غلظت های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم نشان می دهد که تعداد سلولهای لایدیگ اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) در مقایسه با گروه کنترل دارد. این اختلاف معنی دار در هر سه غلظت ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم از فرومون 9-Tricosene (Z) مشهود است. محققان نشان داده اند که سلولهای لایدیگ علاوه بر تولید تستوسترون، فاکتورها و هورمونهای دیگر از قبیل اکسی

(Z)-15-tetracosenal) احیا می‌شود. در طی یک واکنش دیکربوکسیلاسیون، آلدئید به (Z)-9-Tricosene) مبدل می‌گردد. این فرایند توسط آنزیم سیتوکروم P450 انجام می‌شود و نیازمند اکسیژن و نیکوتین آمید و آدنین دی‌نوکلئوتید فسفات (NADPH) است. مشارکت NADPH و اکسیژن و بازدارنده CO و آنتی‌بادی سیتوکروم P450 ردونکاز قویا بر شرکت سیتوکروم P450 در این واکنش دلالت دارد که این آنزیم در واکنش چرخه‌ی میتوزی و تقسیمات سلولهای زاینده نقش دارد (۲۸).

نتایج پژوهش حاضر، تاثیر مثبت فرومون (Z)-9-Tricosene را بر اسپرماتوژنز و افزایش تعداد سلولهای زاینده و افزایش بافت بینابینی بیضه را بطور آشکار بیان می‌کند. در مطالعه‌ی حاضر برای اولین بار غلظت‌های موثر فرومون (Z)-9-Tricosene در سه دوز مورد بررسی قرار گرفت. این مورد گواه این مطلب است که فرومون مذکور در شرایط تیمار در غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم می‌تواند تاثیر خود را بهتر آشکار سازد.

پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده، اثر تیمار دوزهای مختلف این فرومون بر اندام‌هایی نظیر سیستم عصبی و سیستم نوروکیرین و تاثیر ماده‌ی فوق‌بر پارامترهای تولیدمثلی جنس ماده و تاثیر فرومون مذکور در غلظت‌های بیشتر مورد بررسی قرار گیرد.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فلاورجان و سرکارخانم دکتر روزبهانی، گروه زیست‌شناسی و مسئولین مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان که ما را در انجام این پژوهش برگرفته از پایان‌نامه یاری نمودند، سپاسگزاری می‌نمایم.

سیستم اندام تولیدمثلی دارد و باعث افزایش سلولهای لایدیگ می‌شود. افزایش معنی‌دار انواع سلولهای زاینده در لوله‌های اسپرم‌ساز باعث افزایش عملکرد سلولهای لایدیگ و افزایش این سلولها باعث افزایش روند اسپرماتوژنز شده است (۵). بنابراین با توجه به تحقیق حاضر احتمال دارد (Z)-9-Tricosene از طریق افزایش تقسیمات سلولهای زاینده، باعث پیشرفت روند اسپرماتوژنز در موشهای نر نژاد ویستار شده و در نتیجه میزان باروری را افزایش می‌دهد.

نتایج حاصل از تزریق فرومون (Z)-9-Tricosene در غلظت‌های مختلف، افزایش معنی‌دار سلولهای زاینده و افزایش وزن و حجم بافت بیضه بر اساس افزایش تعداد سلولهای زاینده و افزایش بافت بینابینی بیضه را نشان می‌دهد که این افزایش تعداد اسپرم‌ها در نتیجه‌ی افزایش تعداد اسپرماتیدها حاصل شده است، همچنین تحقیقات حاکی از این است که بین تولید اسپرماتوزوئید و حجم بیضه رابطه مستقیمی وجود دارد (۱۰).

با کمک از مطالعه‌ی آقای داو و داکلسکایا در سال ۲۰۰۳ در مورد موش نر CBA (موش CBA حاوی موتاسیون Pde6b<sup>rd</sup>، حاصل کراس ماده‌ی آلبینو و یک نر DBA در سال ۱۹۲۰ است) اثر فرومون ۵۰۲ دی‌متیل‌پیرازین را بر روی تمایز اسپرم باعث ناهنجاری سر اسپرم و کاهش باروری در موش نر CBA بعد از تیمار مشابه گردید که فرومون (Z)-9-Tricosene اثری کاملاً غیرمشابه از این فرومون از خود نشان داد و باعث افزایش پارامترهای اسپرماتوژنز و باروری گردید (۱۴).

همچنین، بایستی خاطر نشان کرد که مکانیسم عمل فرومون (Z)-9-Tricosene بدین ترتیب است که (Z)-9-Tricosene در مگس خانگی از نروونیک اسید سنتز می‌شود. اسید به مشتقات آسیل کوآ تبدیل شده و به آلدئید،

## منابع

۱. آذرنیا م، قاسمیان ف، بهادری م. ۱۳۹۳. ارتباط بین نوع اسپرم و مرفولوژی زیگوت‌های پیش‌هسته‌ای در چرخه‌های سیتوپلاسمی اسپرم. *مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست‌شناسی ایران)*. ۲۷(۴): 430-437.
۲. اسپراف ل، گلاس ر، کیس ن. ۱۳۸۲. انتقال اسپرم، بارورسازی و لانه‌گزینی. ترجمه‌ی میردامادی ر، تهران، شهر آب: آینده‌سازان، ۴۸ صفحه.
۳. افتخاری ح، باباپور و، روحانی ع، رنجبرانی غ، پریور ک. فیزیولوژی و فارماکولوژی. ۱۳۸۶. بررسی اثر فرومون‌ها بر سطح پلاسمایی هورمون پرولاکتین در طی دوره‌های حاملگی و شیردهی در رت ماده. *فیزیولوژی و فارماکولوژی*. ۱۱(۲): 107-114.
۴. پریورک، محسنی ه، بیگدلی م، عبادی مناس ق. ۱۳۸۹. بررسی اثرات سیتوکسیک تولوالدواکسیم بر روی اسپرماتوزن موش‌های sperm-head abnormalities in male CBA mice. *Russ. J. Genet.* 39: 811-815.
15. Dillwith, J.W., Blomquist, G.J., Nelson, D.R. 1981. Biosynthesis of the hydrocarbon components of the sex pheromone of the housefly, *Musca domestica*. *L. Insect Biochem.* 11: 247-253.
16. - Dillwith, J.W., Nelson, J.H., pomnois, J.G., Nelson, D.R., Blomquist, G.J. 1982. A <sup>13</sup>C NMR study of Methyl- branched hydrocarbon biosynthesis in the housefly. *J. Biol. Chem.* 257: 11305-11314.
17. Dillwith, J. W., Adams, T. S., Blomquist, G. J. 1983. Correlation of housefly sex pheromone production with ovarian development. *J. Insect Physiol.* 29: 377-386.
18. Izard, M.K., Vandenberg, J.G. 1982b. The effects of bull urine on puberty and calving date in crossbred beef heifers. *J. Animal Sci.* 55: 1160-1168.
19. Izard, M.K. 1983. Pheromones and reproduction in domestic animals. In: Vandenberg, J.G. (Ed.), *Pheromones and Reproduction in Mammals*. Academic Press, New York, pp. 253-285.
20. Johns, M.A. 1980. The role of vomeronasal system in mammalian reproductive physiology. In: Muller-Schwarz, D., Silverstein, R.M. (Eds.), *Chemical Signals, Vertebrates and Aquatic Invertebrates*. Plenum Press, New York, pp. 341-364.
- نژاد سوری. *مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی*. ۶(۲۰): 10.
۵. حمایت‌خواه جهرمی و، پریور ک، بهالدینی ا، کفیل زاده ف. ۱۳۸۷. بررسی اثر علف‌کش پاراکوات بر تغییرات هیستولوژیکی بیضه، باروری، روند اسپرماتوزن و محورهای هورمونی هیپوفیز-گناد در موش‌های نژاد Balb/C. *مجله زیست‌شناسی ایران*. 21(3): 527-535.
۶. خاکی آ، نوری م، فتحی آزاد ف، خاکی ا. تابستان. ۱۳۸۷. بررسی اثرات پیاز و زنجبیل بر اسپرماتوزن در موش صحرایی. *مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز*. 58-53(30): 2.
۷. فتاحی ا، جور سرائی غ، پریور ک، مقدم نیاع. ۱۳۸۶. بررسی اثر دیازینون بر روی فرآیند اسپرماتوزن در موش سفید کوچک. *مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان*. 9(1): 75-82.
7. Abajeskara. D. R. Cooke. J.Y., Jeremy. P. Kurlak, B.A. 2000. Role of arachidonic acid metabolites in mediating the Hcg-induced increases in interstitial fluid volume in rats. The molecular and cellular endocrinology of the testis. Eds Sereno symposium. 50: 143-150.
8. Abdel- Aziz. MI. Sahab. AM. Abdel-Khalik M. 1994. Influence of diazinon and delta menthrin on reproductive organs and fertility of male rats. *Dtsch Tieraztl. Wochenschr.* 101: 230-232.
9. Adams T. S. and Hintz A. M. 1969. Relationship of ageovarian development and corpus allatum to mating in the housefly, *Muscadomestica*. *J. Insect Physiol.* 15: 201-215.
10. - Alamquist, J.O. Amann, R.P. 2002. Reproduction capacity dairy bulls. Gonadal and extra gonads sperm reserve as determined by direct counts and depletion trails. Dimensions and weight of genitalia. *J. Dairy Sci.* 44: 16-68.
11. - Austin, S. 1999. Germ cell and Development (Spermatogenesis) and Fertilization. Chapter 64.
12. Burns, P. D., Spitzer, J.C. 1992. Influence of biostimulation on reproduction in postpartum beef cows. *J. Animal Sci.* 70: 358-362.
13. Carlson, D.A.; Mayer, M.S.; Sihacek, D.Z.; James, J.D.; Beroza, M.; Bierl, B.A. 1971. Sex attractant pheromone of the house fly: Isolation, identification and synthesis. *Science*, 174: 76-78.
14. Daev. E.V. Dukelskaya, A.V. 2003. The female pheromone 2, 5- Dimethylpyrazine induces

21. Kanimozhi, V. PalanivelK. KadalmaniB. KurkunG. Taylor H. S. 2014. Apolipoprotein E induction in syrian hamster testis following tributyltin exposure: a potential mechanism of male infertility. *Reproductive Sciences* 1-9.
22. Kikusui, T., Takigami, S., Takeuchi, Y., Mori, Y. 2001. Alarm pheromone enhances stress-induced hyperthermia in rats. *Physiol. & Behav.* 72: 45-50.
23. Kohl J, Atzmueller M, Fink B, Grammar K. 2001. Human pheromones: integrative neuroendocrinology & ethology. *NeuroEndocrinolLett* 2001; 22:309-21.
24. McClintock MK. 2000. Human pheromones: primers, releasers, signallers or modulators? In: Wallen K, Schneider E, editors. *Reproduction in context*. Cambridge, MA: MIT Press; 2000. p. 335-420.
25. Nelson, D.R., Dillwith, J.W., Blomquist, G.J. 1981. Cuticular hydrocarbons of the house fly *Musca domestica*. *Insect Biochemistry* 11: 187-197.
26. Parvinen. M.k. Toppali, J. and Vinkok. 1996. Cell Interactions during the seminiferous epithelial cycle. *Int Rev. Citol.* 104: 114-129.
27. Pesando D. Huitorel P. Dolchin V. Angelini O. Guidetti P. Falgui C. 2003. Biological targets of neurotoxic pesticides analysed by alteration of developmental events in the Mediterranean sea urchin, *Paracrototus lividis*, *Mar Environ Res.* 55(1):39-57.
28. Qui. Y. Tittiger. C. Wicker-Thomas, C. Le Goff. G. Young, S. Wajnberg. E. Fricaux, T. Taquet, N. Blomquist, G. and Feyerisen, R. 2012. An insect-specific P450 oxidative decarbonylase for cuticular hydrocarbon biosynthesis. *PANS.* 109: 14858-14863.
29. Roberson, M.S., Wolfe, M.W., Stumpf, T.T., Werth, L.A., Cupp, A.S., Kojima, N.D., Wolfe, P.L., Kittok, R.J., Kinder, J.E., 1991. Influence of growth and exposure to bulls on age at puberty in beef heifers. *J. Animal Sci.* 69:292-298.
30. Rodrigez Ivan. 2004. Pheromone receptors in mammals *Hormone and behavior*, 46:219-230.
31. Rogoff, W.M., Gretz, G.H. Sonnet, P.F., Schwarz, M., 1980. Responses of male house flies to muscalure and to combinations of hydrocarbons with and without muscalure. *Environ. Entomol.* 9, 605-606.
32. Tesarik, J., and Kopenecy, V. 1989. Development of human male pronucleus: Ultra structure and timing. *Gamete. Res.* 24, PP: 135-149.
33. Tirindelli R, Dibattista M, Pifferi S, Menini A. 2009. From pheromones to behaviour. *Physiol Rev* 2009; 89:921-56.
34. Uebel, E.C., Sonnet, P.E., Miller, R.W. 1976. House fly sex pheromone: Enhancement of mating strike activity by combination of (Z)-9-tricosene with branched saturated hydrocarbons. *J. Econ. Entomol.* 5:905-908.
35. Uebel, E. C., Schwarz, M., Lusby, B.R., Miller, R.W., Sonnet, P.E. 1978. Cuticular non-hydrocarbons of the female housefly and their evolution as mating stimulants. *Lloydia* 41: 63-67.
36. Van den Hurk, R. and Resink J.W. 1992. Male Reproductive System Sex Pheromone Producer in teleost fish. *J. Exp. Zool.* 261:204-213.
37. Vohoren. G. Caileau J. 2003. A leydig cell stimulatory factor reproduced by human testicular tubules. *Molec. Cell. Endocrinol.* 49: 137-147.

## The Effect of Pheromone (Z)-9-Tricosene on the Reproductive Organ in Male Wistar Rats

Fallahpour Sh. and Roozbehani Sh.

Biology Dept., Biological Sciences Faculty, Islamic Azad University of Falavarjan, Isfahan, I.R. of Iran

### Abstract

Biological stimulation and pheromone communication play an important role in reproduction process in the behavior of mammals. Pheromones can perceive via olfactory system in the urine, feces or from dermal skin glands, to stimulate both endocrine and behavioral reactions. The purpose of this study was to evaluate the effect of (Z)-9-Tricosene on the number of primary spermatocyte cells, spermatogonia, number of Leydig cells, epididymis tube diameter and thickness of seminiferous tube with different concentrations in male wistar rats. In this study, four experimental groups were considered that consisted of three treatment groups and one control group. Treatment groups were in normal water condition and regular food and 1ml injection of three pheromone concentrations (100,200,300 micro gram per kilogram), respectively. And control group was exposed 1ml distilled water injected. Twenty eight injection was performed during eight weeks from above pheromone every other day, and some results were taken. The results of our study indicated that after treatment with (Z)-9-tricosene pheromone, meaningful difference was observed between the number of primary spermatocyte and Leydig cells in the four study groups ( $P<0.05$ ). Therefore, different concentrations of pheromone have considerable effects on amounts of primary spermatocyte and Leydig cells. But, meaningful difference was not observed for other subjects ( $P>0.05$ ). Indeed, different concentrations of pheromone have no considerable effects on amounts of spermatogony, thickness of seminiferous tube and epididymis tube diameter.

**Key words:** Pheromone, (Z)-9-Tricosene, Spermatogenesis, male rats, Reproductive organ.