

القای اوولاسیون در مولدین فیتوفاگ (*Hypophthalmichthys molitrix*) با استفاده از هورمون LHRH-A و ترکیب آن با آنتاگونیست‌های دوپامین

علیرضا کاشانی ثابت^(۱)، شهربانو عریان^(۲) و محمود بهمنی^(۳)

۱- مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید انصاری، رشت صندوق پستی: ۳۶۷۹-۴۱۳۴۵

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم دانشگاه تربیت معلم، تهران

۳- انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری، رشت صندوق پستی: ۴۱۶۳۵-۳۴۶۴

تاریخ ورود: تیر ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۲

چکیده

در این تحقیق بمنظور بررسی کیفیت اثرات LHRH-A و ترکیب آن با آنتاگونیست‌های دوپامین، متاکلوپرامید (MET) و دومپریدون (DOM)، ۲۱ عدد مولد فیتوفاگ در زمان تکثیر (از ۲۴ تا ۲۶ خرداد ۱۳۸۰) در مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید انصاری رشت مورد بررسی واقع شدند. نتایج این تحقیقات نشان می‌دهد که گروه آزمایشی LHRH-A+MET با مقدار تزریقی $2\mu\text{g}+15\text{mg/kgBW}$ از درصد جوابدهی بسیار مطلوب (۱۰۰ درصد) برای مولدین و از لحاظ سایر عوامل مورد بررسی در این تحقیق، از اختلافی معنی‌دار ($P < 0/05$) نسبت به سایر گروه‌های تیماری برخوردار بوده است. از طرفی با بررسی و مقایسه درجه - ساعت رسیدگی جنسی مولدین در گروه‌های آزمایشی، معلوم شد که گروه‌هایی که از DOM (بصورت سوسپانسیون) بعنوان آنتاگونیست دوپامین در ترکیب با LHRH-A بهره برده‌اند از درجه - ساعت بالاتر (۲۸۸ و ۳۶۶ درجه - ساعت) و از اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر گروه‌های آزمایشی برخوردارند. همچنین در این تحقیق مشخص شد که MET بعنوان آنتاگونیست دوپامین مناسب، توانایی تقویت هورمون LHRH-A را در القای بلوغ نهایی، بعلاوه توانایی کاهش میزان مناسب مقدار تزریقی LHRH-A را دارا است، در حالیکه DOM در این پروژه از چنین اثراتی در تکثیر مصنوعی فیتوفاگ برخوردار نیست که این شاید بدلیل استفاده از شکل سوسپانسیون این آنتی دوپامین در محلول‌های هورمونی این تحقیق باشد.

لغات کلیدی: فیتوفاگ، *Hypophthalmichthys molitrix* LHRH-A، آنتاگونیست دوپامین

مقدمه

نتایج نشان داده‌اند که تزریق توأم هورمون LHRH-A و یک آنتاگونیست دوپامین در تعدادی از ماهیان، از جمله کیور ماهیان بر ترشح GTH و بدنبال آن بر رسیدگی جنسی ماهیان مولد، تأثیر مثبت داشته و در بعضی نیز بی‌تأثیر می‌باشد (Peter et al., 1987 ; Drori et al., 1994).

تا سالهای اخیر، مشخص‌ترین روش جهت تحریکات بلوغ جنسی در بسیاری از ماهیان و از جمله فیتوفاگ، استفاده از تزریق عصاره هیپوفیز کیور بوده تا اینکه آزمایشها و مطالعات اخیر بر روی هورمون گنادوتروپین پستانداران و همینطور آنالوگ‌های آن (GnRH-A) نشان داد که این مواد قادر به القای تخم‌ریزی و اسپرم‌ریزی در ماهیان می‌باشند. امروزه اثرات مثبت و مفید آنالوگ‌های GnRH بمنظور القای بلوغ نهایی، اوولاسیون و در نهایت تخم‌ریزی مولدینی مانند *Tinca tinca* (Kouril et al., 1986)، *Oncorhynchus kisutch* (Breton et al., 1990)، *Abramis brama* (Glubokov et al., 1991) و *Carrassius auratus* (Peter et al., 1985) به اثبات رسیده است. از طرفی با مشخص شدن اثر مهارى دوپامین در آزادسازی GTH در بعضی از ماهیان و تشخیص تأثیر مثبت و مطلوب استفاده از ترکیب آنتاگونیست‌های دوپامین با هورمونهای GnRH-A، گزارشهایی هم در این زمینه بدست آمده است که حاکی از تکثیر موفق حاصل از تلفیق آنالوگ‌های GnRH و یک آنتاگونیست دوپامین در مولدینی مانند *Rutilus rutilus* (Glubokov et al., 1991) و *Aristichthys nobilis* (Fermin, 1991) می‌باشد. همچنین طی تحقیقات انجام شده در کشور، تأثیر مطلوب استفاده از ترکیب آنتی دوپامین و هورمون‌های مؤثر GnRH-A در ماهیان، مانند کیور معمولی (قزل، ۱۳۷۲) و کیور علفخوار (قانعی تهرانی، ۱۳۷۲) به اثبات رسیده است. از طرفی استفاده از ترکیب هورمون و آنتاگونیست دوپامین در رسیدگی بلوغ مولدین نر هم تأثیر مثبت داشته است (Billard et al., 1987).

بنابراین در این تحقیق سعی شده است کیفیت اثرات هورمون LHRH-A به تنهایی و ترکیب آن با آنتاگونیست‌های دوپامین بمنظور رسیدگی جنسی مولدین ماده با تأکید بر سنجش عوامل ظاهری و فیزیولوژیک حاصل از تخم‌ریزی مورد بررسی و مطالعه قرار گیرد تا با استفاده از این تحقیق یک ترکیب و تکنیک هورمونی مناسب بمنظور ارتقای عمل تکثیر مصنوعی ماهی فیتوفاگ و بدنبال آن بالا بردن درصد لقاح، تخم‌گشایی و تولید بچه ماهیان نورس مطلوب، معرفی گردد.

مواد و روش کار

برای اجرای این تحقیق، ۷ گروه تیماری مطابق جدول ۱ براساس تنوع محلول‌های هورمونی و تنوع مقدار تزریقی آنها در نظر گرفته شد که با احتساب ۳ مولد بعنوان تکرار برای هرگروه تیماری، جمعاً ۲۱ مولد ماده کیور نقره‌ای در اختیار پروژه قرار داده شد.

جدول ۱: گروه‌های هورمونی و مقدار تزریقی آنها بمنظور رسیدگی جنسی مولدین ماده فیتوفاگ

تیمار	گروه	محلول هورمونی	مقدار تزریقی
۱	آزمایشی	LHRH-A ^(۱)	۲μg/kgbw
۲	"	LHRH-A	۳μg/kgbw
۳	"	LHRH-A+MET ^(۲)	۲μg+۱۵mg/kgbw
۴	"	LHRH-A+MET	۳μg+۲۰mg/kgbw
۵	"	LHRH-A+DOM ^(۳)	۲μg+۲mg/kgbw
۶	"	LHRH-A+DOM	۲μg+۵mg/kgbw
۷	کنترل	LHRH-A+HCG ^(۴)	۲μg+۲۰۰IU

۱- LHRH-A: Pyglu-His-Trp-Ser-Tyr-D.Ala-Leu-Arg-Pro-NH₂-C₂H₅

بصورت ویالهای حاوی ۵۰μg ماده مؤثر و ساخت کشور چین می‌باشد.

۲ - متاکلوپرامید هیدروکلراید (Metoclopramid Hcl) بعنوان آنتاگونیست دوپامین، خریداری شده از شرکت داروسازی حکیم، محصول شرکت اسپانیا

۳ - دومپریدون (Dompridon)، جدیدترین و موثرترین آنتی دوپامین شناخته شده با بالاترین میل ترکیبی تهیه شده از انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری دکتر دامان

۴ - HCG (Human Chorionic Gonadopin) گنادوتروپین جفت انسان

تهیه محلول‌های هورمونی برای هریک از گروه‌های تیماری، بدلیل قابلیت حل مناسب LHRH-A و متاکلوپرامید (MET) در سرم فیزیولوژی براحتی امکانپذیر بود. همچنین در مورد هورمون HCG باید اظهار نمود از آنجایی که استفاده از این هورمون باعث پیش‌آمدگی تخمکها می‌شود، بنابراین برای رسیدگی کامل تخمکها و نتیجه بهتر در تکثیر مولدین، در بسیاری از مراکز تکثیر و پرورش ماهی از این

ترکیب هورمونی (LHRH-A+HCG) جهت رسیدگی جنسی مولدین ماده فیتوفاگ و سرگنده استفاده می‌گردد، اما برای تهیه ترکیب هورمونی LHRH-A+DOM، بدلیل عدم حلالیت کامل دومپریدون (DOM) در سرم فیزیولوژی، این ترکیب هورمونی بصورت سوسپانسیون مورد استفاده قرار گرفت.

با مناسب شدن درجه حرارت آب استخرها (۲۴ تا ۲۶ درجه سانتیگراد) و شروع فصل تکثیر، مولدین از استخرهای ویژه نگهداری مولد صید و به حوضچه‌های بتونی که برای این منظور طراحی شده‌اند انتقال یافتند. برای دقت و نظم بیشتر در اجرای عملیات این تحقیق، تصمیم گرفته شد ۲۱ مولد اختصاص یافته به طرح، به دو گروه عملیاتی تقسیم گردند. از اینرو در روز اول تحقیق، ۱۲ مولد را مورد عملیات بیومتری، تزریق مرحله مقدماتی و نهایی و صبح روز بعد مورد تخم‌کشی قرار دادند و در ظهر روز دوم ۹ مولد باقیمانده (سه گروه تیماری) مورد عملیات فوق قرار گرفتند. تزریق مقدماتی مولدین ماده با میزان ۲۰ درصد کل مقدار تزریقی، و ۱۲ ساعت بعد ۸۰ درصد مابقی محلول هورمونی تزریق نهایی شد.

ساعت ۹ صبح روز دوم تحقیق پس از اطمینان از وقوع تخم‌گذاری قرار گرفتند که با مشخص شدن وزن بدن هریک از مولدین، تزریق مقدماتی با میزان ۲۰ درصد کل در ماهیان مولد ماده، اقدام به صید تخم‌کشی، جهت تکثیر مصنوعی گردید (تکثیر به روش کشور مجارستان که به تکثیر مجاری معروف می‌باشد). سپس کل تخمک بدست آمده از هر ماهی توزین (محاسبه درصد وزن تخمک استحصالی نسبت به وزن بدن) گردید و نمونه ۵۰ گرمی آن بعنوان مقدار ثابت نمونه مورد بررسی، برای همه گروههای تیماری در نظر گرفته شد. با توجه به تعداد مولدین تخم‌کشی شده، اسپرم استحصالی مولدین نر (هم تعداد با مولدین ماده) با هم ترکیب و به نمونه‌های ۵۰ گرمی تخمک استحصالی هر مولد افزوده شد. تخمهای استحصالی پس از شستشو، بمنظور گذراندن مراحل جنینی، بداخل انکوباتورهای زوک انتقال یافته و پس از گذشت ۱۲ ساعت از عمل لقاح، زمانیکه تخم‌های لقاح یافته به مرحله بسته شدن بلاستوپور رسیده بودند، درصد لقاح تخمها اندازه‌گیری شد و پس از تخم‌گشایی کامل لاروها، با شمارش لاروهای خارج شده از تخم، درصد تخم‌گشایی لاروها اندازه‌گیری شد.

آزمایشها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شده و جهت مشخص نمودن وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین سن، وزن و اندازه دور بدن مولدین و همچنین عوامل مورد بررسی شامل: درصد وزن تخمک نسبت به وزن بدن، درصد جابدهی، درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی، درصد بازماندگی و

درجه - ساعت رسیدگی جنسی از تجزیه واریانس یکطرفه و آزمون t-test (LSD) با اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) استفاده شد.

نتایج

با استفاده از آزمون t-test (LSD) و با توجه به محاسبه‌های انجام شده در سطح اطمینان ۹۵ درصد این نتیجه بدست آمد که وزن، سن و اندازه دور بدن مولدین در گروه‌های تیماری مختلف، باهم اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری ندارند. ($p > 0.05$) (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه میانگین سن، وزن و اندازه دور بدن مولدین در گروه‌های تیماری

شماره تیمار	محلول هورمونی	میانگین سن	میانگین وزن	میانگین اندازه دور بدن
۱	LHRH-A ($2 \mu\text{g}/\text{kgbw}$)	$4/6 \pm 0.14a$	$7/9 \pm 0.10a$	$46 \pm 0.72a$
۲	LHRH-A ($3 \mu\text{g}/\text{kgbw}$)	$4/6 \pm 0.14a$	$8/0.3 \pm 0.10a$	$49 \pm 0.72a$
۳	(LHRH-A+MET $2\mu\text{g}+15\text{mg}/\text{kgbw}$)	$4/6 \pm 0.14a$	$7/9 \pm 0.10a$	$50 \pm 0.72a$
۴	(LHRH-A+MET $3\mu\text{g}+20\text{mg}/\text{kgbw}$)	$5 \pm 0.14a$	$7/4 \pm 0.10a$	$48/3 \pm 0.72a$
۵	(LHRH-A+DOM $2\mu\text{g}+2\text{mg}/\text{kgbw}$)	$4/6 \pm 0.14a$	$8 \pm 0.10a$	$50 \pm 0.72a$
۶	(LHRH-A+DOM $2\mu\text{g}+5\text{mg}/\text{kgbw}$)	$5 \pm 0.14a$	$7/8 \pm 0.10a$	$50/6 \pm 0.72a$
۷	(LHRH-A+HCG $2\mu\text{g}+20\text{IU}/\text{kg}$)	$4/6 \pm 0.14a$	$8 \pm 0.10a$	$50 \pm 0.72a$

مقادیری که در هر ستون با حروف مشابه مشخص شده‌اند اختلاف معنی‌دار آماری ندارند ($p > 0.05$) میانگین \pm خطای استاندارد.

با انجام آزمون t-test (LSD)، در سطح اطمینان ۹۵ درصد مشخص شد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های تیماری ۱، ۵ و ۶ با سایر گروه‌های تیماری از لحاظ درجه - ساعت رسیدگی جنسی وجود دارد، بطوریکه مناسب‌ترین میانگین درجه - ساعت رسیدگی مربوط به گروه‌های تیماری ۲، ۳، ۴ و ۷ با ۲۱۶ درجه - ساعت و بالاترین میانگین درجه - ساعت متعلق به گروه آزمایشی ۵ با ۳۳۶ درجه - ساعت می‌باشد (جدول ۳ و نمودار ۱). از طرفی با آنالیز آماری داده‌ها و با اطمینان ۹۵ درصد مشخص شد

که مقدار جوابدهی گروه تیماری ۳ با درصد جوابدهی ۱۰۰ درصد از اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها برخوردار می‌باشد (جدول ۳ و نمودار ۲).

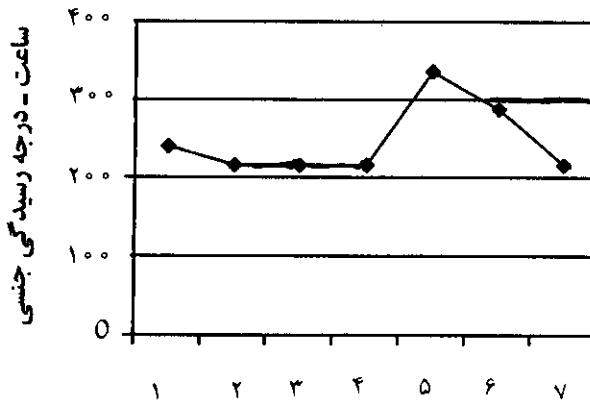
جدول ۳: مقایسه میانگین درجه - ساعت رسیدگی جنسی و درصد جوابدهی مولدین در

تیمارهای مختلف

شماره تیمار	محلول هورمونی	میانگین درجه-ساعت رسیدگی جنسی	درصد جوابدهی مولدین
۱	LHRH-A ($2 \mu\text{g}/\text{kg}$)	$240 \pm 11/10.b$	$23/23 \pm 9/52a$
۲	LHRH-A ($3 \mu\text{g}/\text{kg}$)	$216 \pm 11/10.a$	$66/66 \pm 9/52a$
۳	(LHRH-A+MET $2\mu\text{g}+15\text{mg}/\text{kgbw}$)	$216 \pm 11/10.a$	$100 \pm 9/52b$
۴	(LHRH-A+MET $3\mu\text{g}+20\text{mg}/\text{kgbw}$)	$216 \pm 11/10.a$	$66/66 \pm 9/52a$
۵	(LHRH-A+DOM $2\mu\text{g}+2\text{mg}/\text{kgbw}$)	$236 \pm 11/10.c$	$23/23 \pm 9/52a$
۶	(LHRH-A+DOM $2\mu\text{g}+5\text{mg}/\text{kgbw}$)	$288 \pm 11/10.d$	$23/23 \pm 9/52a$
۷	(LHRH-A+HCG $2\mu\text{g}+20\text{IU}/\text{kg}$)	$216 \pm 11/10.a$	$66/66 \pm 9/52a$

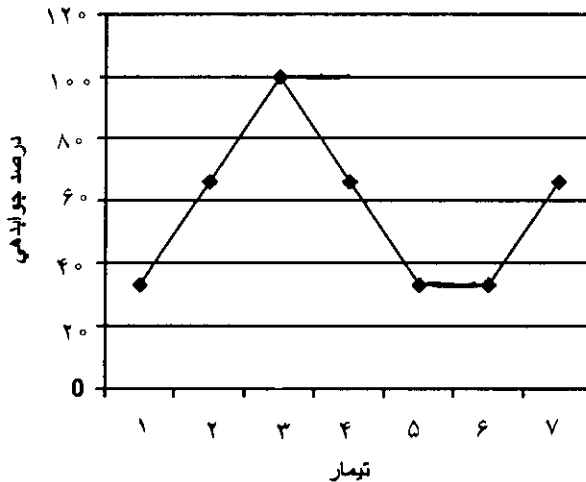
مقادیری که در هر ستون با حروف مختلف مشخص شده‌اند، اختلاف معنی‌دار آماری دارند ($p < 0.05$)

میانگین \pm خطای استاندارد.



تیمار

نمودار ۱: مقایسه میانگین درجه - ساعت رسیدگی مولدین در گروه‌های تیماری



نمودار ۲: مقایسه درصد جوابدهی مولدین در گروه‌های تیماری

با توجه به محاسبه‌های انجام شده در سطح اطمینان ۹۵ درصد این نتیجه بدست آمد که اختلاف معنی‌داری در گروه‌های تیماری از لحاظ درصد وزن تخمک استحصالی نسبت به وزن بدن مولدین وجود ندارد (جدول ۴ و نمودار ۳). از طرف دیگر با توجه به آنالیز آماری داده‌ها، در سطح اطمینان ۹۵ درصد مشخص شد که درصد لقاح تخم در بعضی از گروه‌های آزمایشی دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد ($p < 0.05$)، بطوریکه با انجام آزمون t -test (LSD) با اطمینان ۹۵ درصد معلوم شد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تیماری ۲، ۳، ۴ و ۷ با گروه‌های تیماری ۱ و ۶ وجود دارد و این دو گروه آزمایشی با سایر گروه‌های آزمایشی در یک گروه همگن واقع نشده‌اند. بیشترین مقدار درصد لقاح تخم متعلق به گروه تیماری ۷ (کنترل) با ۶۵ درصد و کمترین مقدار مربوط به گروه تیماری ۶ با ۳۹ درصد بود (جدول ۴ و نمودار ۴).

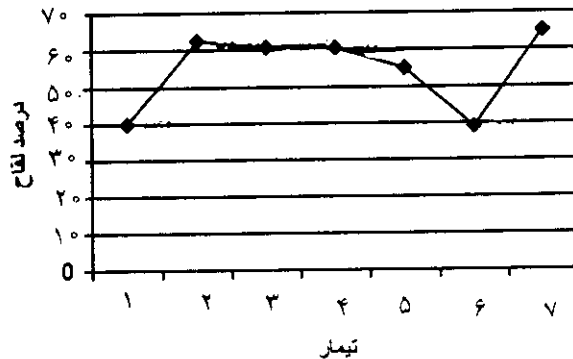
جدول ۴: مقایسه میانگین درصد وزن تخمک استحصالی نسبت به وزن بدن و درصد لقاح تخم در

گروه‌های تیماری

شماره تیمار	محلول هورمونی	میانگین درصد وزن تخمک نسبت به وزن بدن	درصد لقاح
۱	LHRH-A ($2 \mu\text{g}/\text{kg}$)	$2/3 \pm 0/88a$	$40 \pm 2/84b$
۲	LHRH-A ($3 \mu\text{g}/\text{kg}$)	$8/05 \pm 0/88a$	$62/5 \pm 2/84a$
۳	(LHRH-A+MET $2 \mu\text{g} + 15 \text{mg}/\text{kgbw}$)	$8/06 \pm 0/88a$	$60/6 \pm 2/84a$
۴	(LHRH-A+MET $3 \mu\text{g} + 20 \text{mg}/\text{kgbw}$)	$5/6 \pm 0/88a$	$60/5 \pm 2/84a$
۵	(LHRH-A+DOM $2 \mu\text{g} + 2 \text{mg}/\text{kgbw}$)	$8/1 \pm 0/88a$	$55 \pm 2/84ab$
۶	(LHRH-A+DOM $2 \mu\text{g} + 5 \text{mg}/\text{kgbw}$)	$5/7 \pm 0/88a$	$39 \pm 2/84b$
۷	(LHRH-A+HCG $2 \mu\text{g} + 200 \text{IU}/\text{kg}$)	$9/2 \pm 0/88a$	$65 \pm 2/84a$



نمودار ۳: مقایسه میانگین درصد وزن تخمک نسبت به وزن بدن در گروه‌های تیماری

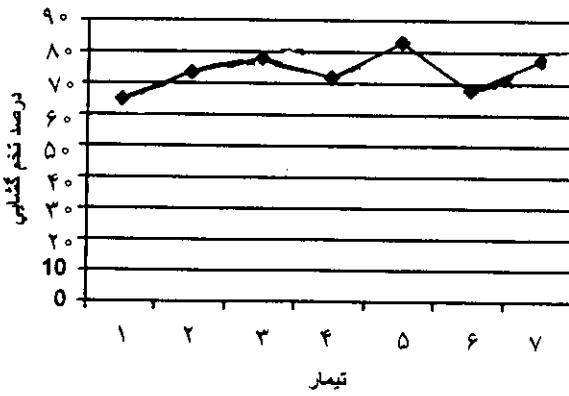


نمودار ۴: مقایسه میانگین درصد لقاح تخم در گروه‌های تیماری

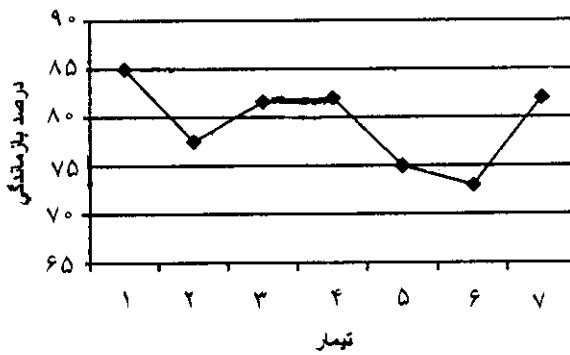
با توجه به محاسبات انجام شده در سطح اطمینان ۹۵ درصد مشخص شد که در بعضی از گروه‌های تیماری، از نظر درصد تخم‌گشایی (Hatching) اختلاف معنی‌داری وجود دارد، بطوریکه تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی ۳، ۵ و ۷ با گروه آزمایشی ۱ و همچنین اختلاف معنی‌داری بین گروه آزمایشی ۵ و ۶ مشاهده شده است که در سایر گروه‌ها مشاهده نشده است (جدول ۵ و نمودار ۵). همچنین با استفاده از آزمون فوق و با سطح اطمینان ۹۵ درصد مشخص شد که گروه‌های تیماری از نظر درصد بازماندگی لارو دارای اختلاف معنی‌داری نمی‌باشند ($p > 0.05$) و تمام گروه در یک گروه همگن واقع شده‌اند. (جدول ۵ و نمودار ۶).

جدول ۵: مقایسه درصد تخم‌گشایی و درصد بازماندگی لارو در گروه‌های تیماری

شماره تیمار	محلول هورمونی	درصد تخم‌گشایی	درصد بازماندگی لارو
۱	LHRH-A (۲ $\mu\text{g}/\text{kg}$)	۶۵ ± ۱/۶۲bc	۸۵ ± ۶/۱۳a
۲	LHRH-A (۳ $\mu\text{g}/\text{kg}$)	۷۳/۵ ± ۱/۶۲abc	۷۷/۵ ± ۶/۱۳a
۳	(LHRH-A+MET ۲ μg +۱۵mg/kgbw)	۷۸ ± ۱/۶۲ac	۸۱/۶ ± ۶/۱۳a
۴	(LHRH-A+MET ۳ μg +۲۰mg/kgbw)	۷۲ ± ۱/۶۲abc	۸۲ ± ۶/۱۳a
۵	(LHRH-A+DOM ۲ μg +۲mg/kgbw)	۸۳ ± ۱/۶۲a	۷۵ ± ۶/۱۳a
۶	(LHRH-A+DOM ۲ μg +۵mg/kgbw)	۶۸ ± ۱/۶۲c	۷۳ ± ۶/۱۳a
۷	(LHRH-A+HCG ۲ μg +۲۰ IU/kg)	۷۷/۵ ± ۱/۶۲ac	۸۲ ± ۶/۱۳a



نمودار ۵: مقایسه درصد تخم‌گشایی در تیمارهای مختلف



نمودار ۶: مقایسه درصد بازماندگی لاروها در تیمارهای مختلف

بحث

طبق شواهد موجود، بهره‌گیری از یک القاء‌کننده مؤثر تخم‌ریزی به همراه استفاده از مقدار مناسب تزریقی آن که شرایط مطلوبی را در رسیدگی جنسی مولدین ایجاد می‌کند، می‌تواند منجر به تولید تخم‌هایی با کیفیت خوب و بدنبال آن درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی و تولید بچه‌ماهیان نوری مطلوب گردد (Drori *et al.*, 1994). بنابراین پایین یا نامناسب بودن پارامترهای مورد بررسی در این تحقیق شامل: درصد جوابدهی، درصد وزن تخمک نسبت به وزن بدن، درصد لقاح، درصد تخم‌گشایی و درصد بازماندگی در گروه آزمایشی ۱ را شاید به مناسب نبودن مقدار تزریقی هورمون نسبت داد، زیرا طبق یک بررسی انجام گرفته بر روی ماهیان مولد کپور نشان داده شده است که استفاده از مقدار پایین تزریقی آنالوگ GnRH منجر به عدم تخم‌ریزی مولدین گردید (Drori *et al.*, 1994). از طرف دیگر با بررسی نتایج حاصل از گروه آزمایشی ۲ (LHRH-A با مقدار تزریقی $2\mu\text{g}/\text{kg}$) شاهد مناسب بودن درصد جوابدهی (۶۶/۶ درصد) و سایر عوامل مورد بررسی در این تحقیق بوده، که با انجام این آزمایش، توانایی هورمون LHRH-A بعنوان یک القاء‌کننده مؤثر اوولاسیون، تخم‌ریزی و در نهایت رسیدگی جنسی مولدین فیتوفاگ، بخوبی به اثبات می‌رسد. بطوریکه طبق گزارشی، تغییراتی در سطح GTH به موازات رسیدگی تخمک در کپور تیمار شده با LHRH-A و بدون حضور آنتاگونیست دوپامین مشاهده شده که منتج به اوولاسیون تنها ۵۰ درصد از تخمک‌های مولدین مورد بررسی شده است (Billard *et al.*, 1984). همچنین از آنجائیکه دوپامین و اثر مهاری آن بر آزادسازی GnRH در ماهیانی مانند Gold fish (Peter *et al.*, 1987) و Common carp (Fermin, 1991) و ماهیان دیگر تأیید شده بود، بنابراین برای کنترل و جلوگیری از اثر بازدارندگی دوپامین بر ترشح GTH و تقویت عمل LHRH-A از دو نمونه آنتی‌دوپامین (DOM, MET) با ویژگیهای خاص خود در این تحقیق استفاده گردید که با دقت در ترکیب و مقدار هورمون مورد استفاده در گروه آزمایشی ۳ (LHRH-A+MET) با مقدار تزریقی $2\mu\text{g}+15\text{mg}/\text{kg}$ روشن می‌شود که اگر به هورمون LHRH-A و با مقدار تزریقی $2\mu\text{g}/\text{kg}$ (مشابه با گروه

آزمایشی (۱) متاکلوپرامید بعنوان آنتاگونیست دوپامینی که دارای حلالیت مناسب می‌باشد ترکیب گردد، باعث مناسب شدن پارامترهای مورد بررسی در این تحقیق و بخصوص درصد جوابدهی خواهد شد. بطوریکه این موضوع فرضیه استفاده از یک آنتاگونیست دوپامین را بخوبی اثبات می‌کند. Droni و همکارانش در سال ۱۹۹۴ در مطالعات خود با عنوان القای تخم‌ریزی در کپور معمولی نشان دادند که استفاده از ترکیب sGnRH+MET منتج به یک افزایش ده برابر در گردش GTH ماهیان شده است اما استفاده از MET و sGnRH، هریک به تنهایی هیچ تأثیری در سطح GTH سرم نداشته‌اند. همچنین استفاده از دومیریدون DOM بعنوان اختصاصی‌ترین و مؤثرترین آنتاگونیست رسپتور D_2 دوپامینی و با بالاترین میل ترکیبی شناخته شده در ترکیب با LHRH-A، نشان می‌دهد که درصد جوابدهی و درجه - ساعت رسیدگی جنسی مولدین تیمار شده با این گروه هورمونی، از نتایج نامناسب برخوردار می‌باشد، بخصوص اگر با متاکلوپرامید (MET) دیگر آنتاگونیست دوپامین، مورد مقایسه قرار گیرد. بنابراین در این تحقیق، MET بعنوان آنتی‌دوپامین مطلوب و مناسب برای ترکیب با LHRH-A شناخته شده و این ترکیب هورمونی بعنوان گروه آزمایشی برگزیده برای القای اوولاسیون و تخم‌ریزی مولدین معرفی شده و توانایی تقویت عمل را در رسیدگی جنسی مولدین فیتوفاگ بخوبی داراست، اما DOM در این تحقیق (ترکیب با LHRH-A) چنین توانایی ندارد و این شاید بدلیل استفاده از شکل سوسپانسیون آن و حل نشدن کامل آن در این تحقیق باشد، زیرا استفاده از DOM در ترکیب با هورمون‌های مؤثر، بمنظور رسیدگی بلوغ در تاسماهیان موفقیت‌آمیز بوده، بطوریکه با کاهش مقدار نتایج بهتری حاصل گردیده است (بهمنی و همکاران، ۱۳۸۱).

تشکر و قدردانی

از جناب آقای مهندس طلوعی، سرپرست محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید انصاری، به خاطر همکاری صادقانه و فعالانه در اجرای هرچه بهتر تحقیق و همچنین از کلیه بخش‌های مرکز شهید انصاری

و انستیتو تحقیقات بین‌المللی ماهیان خاویاری که بنحوی در اجرای این پروژه اثرگذار بودند، کمال سپاسگزاری را داریم.

منابع

- بهمنی، م. و کاظمی، ر.؛ پوردهقانی، م.؛ ملک‌زاده، ر.؛ حلاجیان، ع.؛ دژندریان، س.؛ محسنی، م.؛ مصطفوی، ح و مجازی امیری، ب.، ۱۳۸۱. روش نوین در بیوتکنیک تکثیر ماهی ازون برون *Acipenser stellatus* با ترکیب تلفیقی GnRH و آنتاگونیست دوپامین. دومین همایش ملی-منطقه‌ای ماهیان خاویاری. رشت، ۴ تا ۶ آبان ۱۳۸۱. ۳ صفحه.
- قانع‌ی تهرانی، م.، ۱۳۷۲. بررسی امکان استفاده از هورمون‌های GnRH، HCG و PMSG در مقایسه با غده هیپوفیز در ماهی کیپور علفخوار (*Ctenopharyngodon idella*). دانشگاه دامپزشکی تهران. ۱۳۷ صفحه.
- قل، ح.ق.، ۱۳۷۲. بررسی امکان استفاده از هورمون‌های GnRH، HCG و PMSG در مقایسه با غده هیپوفیز در ماهی کیپور معمولی (*Cyprinus carpio*). دانشگاه دامپزشکی تهران. ۱۲۴ صفحه.
- Billard, R. ; Bieniarz, K. ; Peter, R.E. ; Sokolowska, M. and Weil, C. , 1984. Effects of LHRH and LHRH-A on plasma GTH levels and maturation/ovulation in the common carp, *Cyprinus carpio*, kept under various environmental conditions. Aquaculture. Vol. 41, pp.245-254.
- Billard, R. ; Bieniarz, K. ; Popek, W. ; Epler, P. ; Berton, B. and Alag areswmi, K. , 1987. Stimulation of gonadotropin secretion and spermiation in carp by Pimozide-LHRH-A treatment: effects of dose and time of day. Aquaculture. Vol. 62, pp.161-170.

- Breton, B. ; Weil, C. ; Sambron, E. and Zohar, Y. , 1990.** Effects of acute versus sustained administration of GnRH-A on GTH release and ovulation in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, Vol. 91, pp.373-383.
- Drori, S. ; Ofir, M. ; Levavi-sivan, B. and Yaron, Z. , 1994.** Spawning induction in common carp, *Cyprinus carpio*, using pituitary extract or GnRH superactive analoge combined with metoclopramid: analysis of profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. Aquaculture, Vol. 119, pp.393-407.
- Fermin, C.A. , 1991.** LHRH-A and domperidon-induced oocyte maturation and ovulation in bighead carp, *Aristichthys nobilis*, Aquaculture, Vol. 93, pp.87-94.
- Glubokov, A.I. ; Motloch, N.N. and Sedova, M.A. , 1991.** Effect of synthetic LHRH analoge and dopamin antagonists on the maturation of bream, *Abramis brama*. Aquaculture, Vol. 95, pp.373-377.
- Kouril, J. ; Barth, T. ; Hamackova, J. and Flegel, M. , 1986.** Induced ovulation in tench, *Tinca tinca* L. by Various LHRH Synthetic analogues: effect of site of administration and temperature. Aquaculture, Vol. 54, pp.37-44.
- Peter, R.E. ; Nahorniak, C.S. ; Sokolowska, M. ; Chang, J.P. ; Rivier, J.E. ; Vale, W.W. ; King, J.A. and Millar, R.P. , 1985.** Structure activity relationship of mammalian, chicken and salmon gonadotropin releasing hormon *invivo* in goldfish. Gen. Comp. Endocrinol, Vol. 58, pp.231-242.

Peter, R.E. ; Sokolowska, M. ; Nahorniak, C.S. ; Rivier, J.E. and Vale, W.W. ,
1987. Comparison of [D-Arg⁽¹⁾ Trp⁽²⁾ Leu⁽³⁾ pro⁽⁴⁾] NET sGnRH-A, and
[D-Ala⁽⁵⁾, Pro⁽⁶⁾ Net] LHRH-A, in combination with pimozone in stimulating
gonadotropin release and ovulation in the goldfish, *Carrassius auratus*, Can.
Journal of .Zool., Vol. 65, pp.987-991.

Ovulation induced in brood fishes of *Hypophthalmichthys molitrix* by using LHRH-A hormone and its combination with dopamin antagonists

Kashani Sabet A.R.⁽¹⁾ ; Oryan Sh.,⁽²⁾ ; and Bahmani M.⁽³⁾

1- Shahid Ansari Fish Rearing and Propagation Center, P.O.Box: 3679-41345
Rasht, Iran

2- Biology Dept., Science Faculty, Teacher Training University, Tehran, Iran

3- International Strugeon Research Institute, P.O.Box: 41635-364 Rasht, Iran

Recieved: July 2003

Accepted: February 2004

Keywords: Silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*, LHRH-A, Dopamin antagonists

Abstract

In this study in order to investigat the effects of LHRH-A and its combination with dopamin antagonist, Metaclopramid (MET), Dopeidon (Dom), 21 females of *Hypophthalmichthys molitrix* were studied in Shaid Ansari fish rearing and propagation center during June 2001. The results showed that LHRH-A+MET treatment group with 2g+15 μ mg/kg dose, indicate high response (100%) in brood fishes, and other factors have significant differnces ($p < 0.05$) compared to other treatment groups. Also, investigation on the degree-hour of sexual maturity in different treatmnt groups show that the groups with introduced Dom (in suspension from) as dopamin antagonist combined with LHRH-A, indicated higher degree-hour (288,366 degree-hour) and has significant difference compared to other treatment groups. In addition this study indicates that MET as suitable dopamin antagonist can strengthen LHRH-A for final sexual maturity, also can decrease LHRH-A dose for injection, but Dom has not the mentioned effects in artifical propagation of *Hypophthalmichthys molitrix* and this can be due to applying suspension form of antidopamin in hormone solution of this research.