

بررسی تغییرات سطوح هورمون‌های 17α -Hydroxyprogesterone و 17β -estradiol طی کاربرد آگونیست و آنتاگونیست‌های دوپامینرژیک و آدرنرژیک به همراه GnRHa و Ovaprim در ماهی سفید *Rutilus frisii kutum*

- سارا کوهی‌لای*: گروه بیولوژی‌دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
- شهربانو عریان: گروه بیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه خوارزمی، تهران
- همایون حسین‌زاده‌صحافی: مؤسسه تحقیقات و علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران
- پرگل قوام‌مصطفوی: گروه بیولوژی‌دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
- صفیه بهزادی: گروه روانشناسی بالینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن، رودهن

تاریخ دریافت: دی 1394 تاریخ پذیرش: فروردین 1395

چکیده

ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* یکی از گونه‌های ارزشمند تجاری و بومی دریای خزر است. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات بکارگیری آنتاگونیست‌های نسل سوم سیستم دوپامینرژیک و آگونیست و آنتاگونیست سیستم آدرنرژیک به همراه هورمون‌های هیپوتالاموسی، آگونیست GnRH (Buserelin) و Ovaprim بر تغییرات سرمی هورمون‌های 17β -estradiol (E_2) و 17α -hydroxyprogesterone (17α -OHP) در گونه مذکور است. 117 ماهی سفید پیش‌مولد ماده برای انجام این تحقیق انتخاب شدند. ترکیبات در دوزهای مورد نظر شامل: Salbutamol Sulphate (SLB) دوز 4 میلی-گرم، Olanzapine (OLZ) دوز 5 میلی‌گرم، Clozapine (CZ) دوز 12 میلی‌گرم، Metoprolol Tartrate (MTP) دوز 5 میلی‌گرم، Buserelin (BUS) Acetate دوز 5 میکروگرم و Ovaprim دوز 0/5 میلی لیتر به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن، بودند. ترکیبات مذکور در قالب 10 تیمار ترکیبی از هورمون و داروها، تقسیم بندی شدند: گروه 1 (OLZ+SLB)، گروه 2 (OLZ+MTP)، گروه 3 (OLZ+BUS)، گروه 4 (CZ+SLB)، گروه 5 (CZ+MTP)، گروه 6 (CZ+BUS)، گروه 7 (OLZ+BUS+SLB)، گروه 8 (OLZ+BUS+MTP)، گروه 9 (CZ+BUS+SLB)، گروه 10 (CZ+BUS+MTP). سه گروه شاهد مثبت (نرمال سالین)، شاهد منفی (بدون تزریق) و مرجع (اوپریم) نیز در نظر گرفته شدند. نتایج نشان دادند که سطح هورمون E_2 قبل از القاء ترکیبات در ساعت صفر بالا بوده در حالی که پس از القاء ترکیبات و در ساعت 12 پس از تزریق، کاهش پیدا کرده است. در ساعت 12، تیمارهای Ovaprim، OLZ+BUS+SLB و CZ+BUS در مقایسه با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار آماری بودند ($p<0/01$). تیمارهای OLZ+MTP، OLZ+SLB، CZ+SLB و OLZ+BUS+MTP نیز به صورت $p<0/05$ اختلاف معنی‌دار داشتند. ساعت صفر در کلیه تیمارها بدون اختلاف معنی‌دار بود ($p>0/05$). سطح هورمون 17α -OHP در زمان قبل از تزریق (ساعت صفر) پایین بوده به طوری که اووسیت‌ها به مراحل پایانی رسیدگی و تخم‌گذاری که نزدیک شدند، سطح این هورمون افزایش یافت (ساعت 12). تیمارهای Ovaprim، OLZ+BUS+SLB، CZ+BUS و OLZ+SLB با سایر تیمارها در ساعت 12، دارای اختلاف معنی‌دار بودند ($p<0/01$). از پروژه حاضر می‌توان نتیجه‌گیری نمود که با توجه به اثرات مهاری سیستم دوپامینرژیک و تحریکی سیستم آدرنرژیک در فرایندهای تولیدمثلی ماهیان، دو سیستم مذکور در تقابل با یکدیگر بوده‌اند، بنابراین آنتاگونیست‌های نسل سوم دوپامین به همراه آگونیست‌های آدرنرژیک و GnRHa در ماهی سفید بسیار مؤثر عمل نموده‌اند.

کلمات کلیدی: E_2 ، 17α -OHP، Ovaprim، Buserelin، دوپامینرژیک، آدرنرژیک، *Rutilus frisii kutum*

مقدمه

ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* یکی از گونه‌های ارزشمند تجاری و بومی دریای خزر است. با توجه به دلایلی مانند صید بی‌رویه و نیز نامساعد شدن مناطق تخم‌ریزی طبیعی، ذخایر این ماهی در رودخانه‌ها و تالاب انزلی به شدت کاهش یافته‌است، از این رو تکثیر و پرورش این گونه ارزنده، کمک شایانی به بازسازی ذخایر آن در دریای خزر نموده‌است. امروزه تکثیر مصنوعی ماهی سفید در محل مصب رودخانه‌های منتهی به دریای خزر و مراکز تکثیر و پرورش، صورت می‌پذیرد. در سال‌های گذشته از ترکیبات هورمونی با هزینه‌های گزاف برای تکثیر مصنوعی گونه مذکور استفاده گردید، به طوری که راندمان مناسبی حاصل نشد، اخیراً نیز طی تحقیقات به‌عمل آمده توسط Ahmadnezhad و همکاران در سال 2008، از LHRHa به

همراه آنتاگونیست‌های دوپامین مانند پیموزاید و کلرپرومازین در تکثیر مصنوعی گونه مذکور استفاده گردید، به‌طوری که در تیمار ترکیبی LHRHa+ پیموزاید و تیمار عصاره هیپوفیز راندمان مناسبی را در تخم‌ریزی این گونه ایجاد نمودند؛ همچنین Falahatkar و همکاران در سال 2013 از ترکیب Ovaprim، CPE، hCG و LHRHa در القاء تخم‌ریزی و تخم‌گذاری ماهی سفید استفاده نمودند که تیمارهای Ovaprim و CPE نتیجه مثبت و راندمان بالایی داشتند. Heyrati و همکاران نیز در سال 2007 با استفاده از GnRHa 20 میکروگرم و دامپریدون 10 میلی‌گرم به راندمان 100% تخم‌ریزی و اوولاسیون در ماهی سفید دست یافتند. به همین منظور به دست آوردن تکنیک جدید تکثیر مصنوعی این گونه با استفاده از هورمون‌ها و ترکیبات دارویی



مقرون به‌صرفه در جهت افزایش بازدهی تکثیر و پرورش آن، موفقیت بزرگی در این مورد به‌دست خواهد آمد. تولیدمثل يك پدیده اساسی فیزیولوژیک است که بوسیله آن موجودات زنده بقاء خود را تضمین می‌نمایند. در برنامه‌ریزی فعالیت‌های تکثیر و پرورش، پیش بینی زمان رسیدگی ماهیان ماده پس از تأثیر هورمون دارای اهمیت می‌باشد. تولیدمثل با واسطه سیستم عصبی مرکزی (CNS) از طریق آزادسازی هورمون آزادکننده گنادوتروپین‌ها (GnRH) از هیپوتالاموس تنظیم می‌گردد (Yu و همکاران، 1997). این دکاپتید آزادسازی گنادوتروپین (GTH) را از هیپوفیز تحریک می‌کند (Kobayashi و همکاران، 1997). در برخی ماهیان بخصوص نمونه‌های آب شیرین، دوپامین دارای اثر مهاری بر آزادسازی گنادوتروپین هیپوفیز می‌باشد (Yu و Peter، 1997). در تمام گونه‌ها GnRH، آزادکننده قوی گنادوتروپین است (Zohar و همکاران، 1995). ماده‌هایی که در مرحله رسیدگی نهایی قرار دارند هنگامی که در معرض عوامل خاص محیطی قرار گیرند، موجی از هورمون زرده‌ساز (LH) جهت تخم‌گذاری که حدود 15 ساعت به طول می‌انجامد، آزاد می‌گردد (Kobayashi و همکاران، 2002؛ Stacey و Sorensen، 2002). به دنبال آن استروئیدهای ایجادکننده رسیدگی (MIS) را در لایه فولیکولی برای ایجاد رسیدگی نهایی اووسیت تحریک می‌نماید. محققین مشخص نمودند که دوپامین مهار آزادسازی گنادوتروپین‌ها را احتمالاً بوسیله رسپتورهای دوپامین (D_2 -like) مشابه آنچه در پستانداران وجود دارد، انجام می‌دهد.

امروزه بکارگیری آنتاگونیست‌های دوپامین جهت القاء تخم‌ریزی ماهیان در شرایط اسارت، ضروری می‌باشد. این آنتاگونیست‌ها اغلب در ترکیب با یک آنالوگ GnRH، پاسخ مناسبی را در جهت القاء اوولاسیون ایجاد می‌نمایند. آنتاگونیست‌های دوپامین امروزه در 3 نسل تقسیم‌بندی می‌گردند؛ نسل‌های اولیه احتمالاً از لحاظ راندمان و قدرت عملکردی، ضعیف‌تر می‌باشند، به‌طوری که هر نسل نسبت به نسل‌های قبل بازدهی بالاتری دارد (Maguire، 2002). هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات بکارگیری آنتاگونیست‌های نسل سوم سیستم دوپامینرژیک و آگونیست و آنتاگونیست سیستم آدرنرژیک به همراه هورمون‌های هیپوتالاموسی (آگونیست‌های GnRH) بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد (HPG) از طریق سنجش هورمون‌های 17 β استرادیول و 17 α هیدروکسی پروژسترون با تأکید بر این فرض که آنتاگونیست‌های نسل سوم دوپامین از کارایی و راندمان بالاتری در مقایسه با نسل‌های اول و دوم، برخوردار می‌باشند.

مواد و روش‌ها

تعداد 117 نمونه پیش‌مولد ماهی سفید ماده از روخانه شیروود بوسیله تورهای پرتابی (ماشک) صید شدند. سپس به جدول 1: گروه‌های تیماری ترکیبی به همراه دوز تزریقی، وزن و تعداد نمونه‌ها، هر تیمار دارای 3 تکرار می‌باشد (میانگین $\pm$ خطای استاندارد).

گروه تیماری	محلول تزریقی	دوز تزریقی (میلی‌گرم/میکروگرم)	وزن بدن (گرم)	تعداد نمونه
1	OLZ+SLB	4+5	997/7 $\pm$ 119/7	9

حوضچه‌های ونیرو واقع در سالن تکثیر مشرف به رودخانه شیروود منتقل و نگهداری شدند تا سازگاری با محیط جدید به منظور برطرف شدن استرس‌های ناشی از حمل و نقل، انجام شود. فصل و زمان اصلی تکثیر ماهی سفید در ماه‌های اسفند تا اردیبهشت می‌باشد و اجرای عملیات در فروردین 1393 آغاز گردید. میانگین دمای آب در طول دوره تکثیر در این ماه $^{\circ}C$ 10/0 $\pm$ 2/3 بود. ابتدا ماهیان با استفاده از پلاک‌هایی، تگ‌گذاری شدند. تگ‌های علامت‌گذاری به باله‌پشتی ماهیان متصل گردیده و به دنبال تگ‌گذاری با استفاده از ترازی دیجیتال ماهیان وزن-کشی شدند تا میزان دقیق تزریق هر ترکیب به هر ماهی با وزن مخصوص خود، مشخص گردد.

پس از آماده‌سازی محلول‌های تزریقی، عملیات تزریق به صورت داخل عضلانی به عضلات پشتی مربوط به باله پشتی انجام گردید (Schreck، 1973). قبل از انجام عملیات تزریق خونگیری اولیه (ساعت صفر) از ماهیان به عمل آمد. خونگیری ثانویه نیز در ساعت 12 پس از تزریق صورت پذیرفت. خونگیری با استفاده از سرنگ‌های 2 ^{cc} و با وارد کردن سر سوزن آن از ناحیه بین دو فلس اول تا سوم بخش دمی، به درون قوس خونی انجام گرفت. قبل از خونگیری سرنگ جهت جلوگیری از لخته شدن خون به هپارین آغشته گردید، پس از خونگیری بلافاصله محتویات داخل سرنگ به داخل لوله‌های آزمایشگاهی درباردار وارد گردیده سپس لوله‌ها شمارگذاری شده و جهت سنجش هورمون‌های 17 β -estradiol و 17 α -hydroxyprogesterone، به آزمایشگاه ویرومد گیلان (بخش آبزیان) منتقل گردیدند. جهت جداسازی کامل سرم لوله‌های حاوی نمونه‌های خون در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شدند و در سرعت 4000 دور در ثانیه به مدت 20-30 دقیقه تنظیم گردیدند، سپس سرم به طور کامل از گلوله‌ها جدا شده و سرم‌های به دست‌آمده در لوله‌های جداگانه‌ای به نام میکروتیوب قرار داده‌شدند. هورمون E_2 توسط کیت Fish 17 β -estradiol (E_2) ELISA Kit و هورمون 17 α -OHP توسط کیت Fish 17 α -hydroxyprogesterone (17 α -OHP) ELISA Kit سنجش گردیدند، این کیت‌ها از کمپانی Monobind Inc. Co. USA خریداری شدند. سنجش موارد فوق توسط دستگاه (830 Biotech ELISA (USA) صورت پذیرفت (Munro و Lasley، 1988). بر اساس جدول 1 و 2 گروه‌بندی ترکیبیات در تیمارهای 10 گانه به همراه گروه‌های شاهد و مرجع صورت پذیرفت. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد، ارائه شدند. ابتدا آزمون نرمال بودن داده‌ها (One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test) صورت پذیرفت، پس از بررسی نرمالیتی داده‌ها، از آزمون‌های پارامتریک شامل آزمون آنالیز واریانس (یکطرفه)، (ANOVA One-Way) از آزمون‌ها یا تست‌های تکمیلی به نام تست تعقیبی توکی (Post Hoc Tukey's HSD) در سطح اطمینان 95%، استفاده گردید.

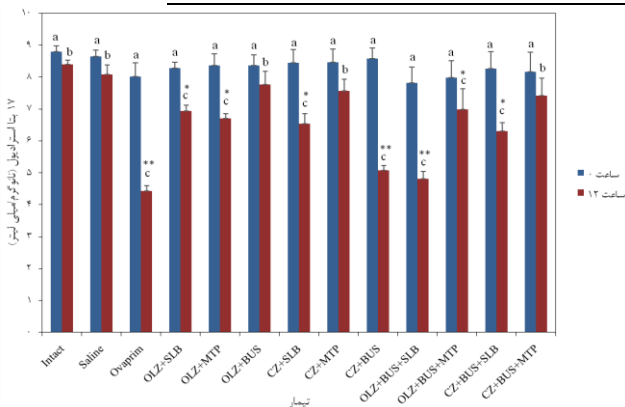
جدول 2:	2	OLZ+MTP	5+5	1405/6±165/5	9
	3	OLZ+BUS	5+5	1160±61/01	9
	4	CZ+SLB	4+12	1078/9±87/6	9
	5	CZ+MTP	5+12	1118/9±94/5	9
	6	CZ+BUS	5+12	962/2±137/9	9
	7	OLZ+BUS+SLB	4+5+5	1154/4±101/7	9
	8	OLZ+BUS+MTP	5+5+5	1202/2±149/8	9
	9	CZ+BUS+SLB	4+5+12	1363/3±161/8	9
	10	CZ+BUS+MTP	5+5+12	1253/3±103/8	9

گروه‌های تیماری ترکیب Ovaprim، گروه Intact و Normal Saline که به ترتیب مرجع، شاهد منفی و شاهد مثبت بودند، هر تیمار دارای 3 تکرار می‌باشد (میانگین±خطای استاندارد).

شماره گروه تیماری	گروه تیماری	دوز تزریقی (میلی لیتر)	وزن بدن (گرم)	تعداد نمونه
1	OVP	0/5	220/4 ±7/1341	9
2	Intact	—	±1/831 84/08	9
3	Normal Saline	0%/7	18/34 ±1/1421	9

نتایج

در نتایج حاصل از هورمون E_2



شکل 1: مقایسه ساعات صفر و 12 از هورمون استرادیول در تمامی تیمارها (میانگین±خطای استاندارد).

حروف c* در $p < 0/05$ و c** در $p < 0/01$ دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

در نتایج حاصل از هورمون 17α -OHP، در ساعات صفر تمامی تیمارها، سطح هورمون در رنج پایین بین محدوده 0/17 تا 0/23 نانوگرم قرارداشت. در ساعات 12 پس از تزریق، بیشترین میزان هورمون متعلق به تیمارهای Ovaprim، CZ+BUS، OLZ+BUS+SLB و OLZ+SLB بود. کمترین میزان هورمون نیز مربوط به تیمار تیمارهای کنترل منفی، CZ+MTP و OLZ+BUS بود. ساعت صفر تمامی تیمارها بدون اختلاف معنی‌دار بود ($p > 0/05$)، در حالی که در ساعات 12 تیمارها، Ovaprim، OLZ+BUS+SLB، OLZ+SLB و CZ+BUS با سایر

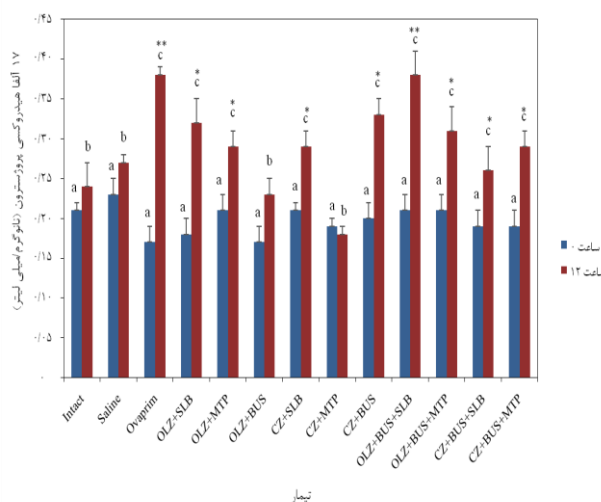
ساعات صفر تیمارها که قبل از هرگونه القایی بود، سطح E_2 بالا بود که بین مقدار 8 تا 9 نانوگرم در تیمارهای مختلف متغیر بود، بین تیمارها در ساعت صفر مربوط به مقدار E_2 هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0/05$). در ساعت 12 پس از تزریق کمترین سطح E_2 متعلق به تیمار Ovaprim 0/38 (نانوگرم/میلی لیتر) بود. بیشترین سطح هورمون نیز مربوط به گروه شاهد منفی (بدون تزریق) بود که در واقع بین ساعت صفر و 12 در گروه شاهد منفی هیچ‌گونه تفاوتی مشاهده نشد. بین تیمارهای Ovaprim، OLZ+BUS+SLB و CZ+BUS هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری به لحاظ سطح هورمون در ساعت 12 وجود نداشت ($p > 0/05$). این سه تیمار در مقایسه با سایر تیمارها در سطح هورمون E_2 مربوط به ساعت 12، دارای اختلاف معنی‌دار بودند ($p < 0/01$) (شکل 1).



بوده است، زیرا اووسیت به سمت تولید ترکیبات و هورمون‌های حد واسط رسیدگی که در زمان تخم‌گذاری و در نزدیکی تخم ریزی تولید می‌شوند، حرکت می‌کند. بنابراین نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهند که کیت هورمونی اوپریم به همراه آنالوگ GnRH از یک طرف و آنتاگونیست‌های نسل سوم دوپامین (کلوزاپین و اولانزاپین) به همراه آگونیست آدرنرژیک (سالبوتامول) از طرف دیگر موفق به کاهش سطح هورمون استرادیول گردیدند که این نشان می‌دهد که استرادیول با توجه به تأثیر اصلی در پدیده زرده‌سازی اووسیت، هنگام نزدیک شدن تخمک به رسیدگی نهایی و آگیری کاهش پیدا کرده است. نتایج پژوهشی نشان داد که مکانیسم‌های مشابه آدرنرژیک و دوپامینرژیک برای تعدیل و تنظیم ترشح GnRH، در بخش پیشین هیپوتالاموسی و هیپوفیزی وجود دارد (Peter و Yu، 1992). در طی تحقیق دیگری نیز مشخص گردید که استروئیدهای جنسی، آزادسازی گنادوتروپین‌ها را در ماده‌های قزل‌آلای رنگین‌کمان تا اندازه‌ای از طریق تعدیل رسپتورهای D_2 دوپامین، تسهیل می‌نماید (Vacher و همکاران، 2002). در بررسی حاضر، بیشترین سطح هورمون E_2 در تیمارهای Intact، Saline، CZ+MTP، OLZ+BUS و CZ+BUS+MTP مشاهده گردید. بین تیمارهای مذکور تفاوت معنی‌داری وجود نداشت که نشان‌دهنده تأثیر اندک تیمارهای فوق بر سطح هورمون استرادیول بوده است. در پژوهش حاضر همچنین مشخص گردید ترکیب متوپرولول به عنوان یک آنتاگونیست رسپتور بتا آدرنرژیک دارای اثر مهار بر اووسیت و تخمدان ماهی سفید بوده است بنابراین در ترکیب با سایر داروها اثرات تحریکی آن‌ها را مهار نموده است و اجازه کاهش سطح هورمون استرادیول و پیشروی اووسیت به سمت رسیدگی نهایی و تخم‌گذاری را نداده است. در پژوهشی دیگر نیز مشخص گردید، ترکیب بروموکریپتین (آنتاگونیست دوپامین) به طور چشمگیری باعث کاهش آزادسازی sGnRH که القاءکننده آزادسازی LH است، می‌گردد که به دنبال تیمار $17\alpha 20\beta P$ رخ داده است. $17\alpha 20\beta P$ به طور قدرتمندی توانست مهار دوپامین را در سطح هیپوفیز در انتهای سیکل تولیدمثلی، انجام دهد. بروموکریپتین آزادسازی FSH را تنها زمانی که با دوز بالایی از sGnRH به طور همزمان استفاده شد، مهار نمود (Vacher و همکاران 2002). Chaube و همکارانش در سال 2012 نشان دادند که بین E_2 و سیستم کاتکول‌آمینرژیک برهم کنشی وجود دارد.

سطح هورمون 17α -OHP در پژوهش حاضر در زمان قبل از تزریق (ساعت صفر) بدون هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها پایین بوده به طوری که اووسیت‌ها به مراحل پایانی رسیدگی و تخم‌گذاری (ساعت 12) که نزدیک شدند، سطح این هورمون افزایش یافته است، 17α -OHP پیش‌ساز هورمون‌های حد واسط بلوغ و رسیدگی است که در زمان زرده‌سازی کاهش یافته ولی در زمان رسیدگی نهایی مجدداً اثر افزایشی دارد. Miwa و همکاران در سال 2001 نشان دادند که غلظت 17α -OHP در مقابل غلظت T و E_2 ، در مرحله 3 در سطح بالایی قرار داشت. تا زمانی که تبدیل به هورمون‌های ایجادکننده بلوغ و رسیدگی نهایی اووسیت (DHP) گردید. این رخدادها در ارتباط با رسیدگی نهایی اووسیت شامل مهاجرت هسته ژرمنال، شکسته‌شدن غشاء هسته، شروع مجدد تقسیم میوز، آگیری اووسیت و تخم‌ریزی

تیمارها تفاوت معنی‌دار داشتند ($p < 0/01$). تفاوت معنی‌داری نیز بین تیمارهای Intact، OLZ+SLB، CZ+MTP و CZ+BUS مشاهده نشد ($p > 0/05$) (شکل 2).



شکل 2: مقایسه ساعات صفر و 12 مربوط به هورمون 17α -OHP در تمامی تیمارها (میانگین $\pm$ خطای استاندارد).
- حروف c* در $p < 0/05$ و c** در $p < 0/01$ دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

بحث

در پژوهش حاضر فرضیه اصلی تحقیق، بازدهی بالای آنتاگونیست رسپتورهای نسل سوم دوپامین در مقایسه با نسل‌های اول و دوم بودند، بدین منظور از دو نوع آنتاگونیست دوپامین مربوط به رسپتورهای D_2 -Like شامل اولانزاپین و کلوزاپین به همراه آنتاگونیست رسپتور بتا آدرنرژیک (متوپرولول) و آگونیست رسپتور بتا آدرنرژیک (سالبوتامول) استفاده گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان هورمون E_2 قبل از القاء ترکیبات در ساعت صفر بدون هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار بین تیمارها، بالا بوده در حالی که پس از القاء ترکیبات سطح آن کاهش پیدا کرده است. Hobby و Pankhurst نیز در سال 1997 نشان دادند که سطح E_2 تخمدان، الگوی مناسبی از تغییرات چرخشی را نشان داده است که متناسب با تغییرات مراحل مختلف گنادی بود.

سطح E_2 در شروع بلوغ، در بیشترین میزان در ماهیان ویتلورژنیک قرار داشت، درحالی که طی تکمیل رسیدگی نهایی اووسیت (FOM)، میزان آن کاهش پیدانمود. در طی یک بررسی اثرات عوامل α - و β -آدرنرژیک بر ترشح LH توسط سلول‌های هیپوفیزی تعیین گردید و به اثبات رسید (Siawrys و همکاران، 2002).

در پژوهش حاضر، کمترین سطح E_2 در ساعت 12 پس از تزریق به تیمارهای Ovaprim، OLZ+BUS+SLB و CZ+BUS تعلق داشت، میزان استرادیول در زمان رسیدگی نهایی اووسیت کاهش یافت، القاء ترکیبات مذکور در مقایسه با سایر تیمارها به میزان بیشتری سطح آن را کاهش داده و به صورت معنی‌داری متفاوت

- spawning success. Archives of Polish Fisheries. Vol. 21, pp: 271-281.
4. Heyrati, F.P.; Mostafavi, H.; Toloei, H. and Dorafshan, S., 2007. Induced spawning of kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) using (D-Ala6, Pro9-NEt) GnRH combined with domperidone. Aquaculture. Vol. 265, pp: 288-93.
 5. Hobby, A.C. and Pankhurst, N.W., 1997. The relationship between plasma and ovarian levels of gonadal steroids in the repeat spawning marine fishes *Pagrus major* (sparidae) and *Chromis dispilus* (Pomacentridae). Fish Physiology and Biochemistry. Vol. 16, No. 1, pp: 65-75.
 6. Kobayashi, M.; Amano, M.; Kim, M.H.; Yoshiura, Y.; Sohn, Y.C.; Suetake, H. and Aida, K., 1997. Gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin in goldfish and masu salmon. Fish physiology and Biochemistry. Vol. 17, pp: 1-8.
 7. Kobayashi, M.; Sorensen, P.W. and Stacey, N.E., 2002. Hormonal and pheromonal control of spawning behavior in goldfish. Fish physiology and Biochemistry. Vol. 26, pp: 71-84.
 8. Maguire, G.A., 2002. Prolactin elevation with antipsychotic medications: mechanisms of action and clinical consequences. Journal of Clinical Psychiatry. Vol. 63, pp: 56-62.
 9. Miwa, T.; Yoshizaki, G.; Naka, H.; Nakatani, M.; Sakai, K.; Kobayashi, M. and Takeuchi, T., 2001. Ovarian steroid synthesis during oocyte maturation and ovulation in Japanese catfish (*Silurus asotus*). Aquaculture. Vol. 198, pp: 179-191.
 10. Munro, C. and Lasley, B., 1988. Non-radiometric methods for immunoassay of steroid hormones. Progress in Clinical and Biological Research. Vol. 285, pp: 289-329.
 11. Peter, R.E. and Yu, K.L., 1997. Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects, Reviews in Fish Biology and Fisheries. Vol. 7, pp: 173-197.
 12. Schreck, C.B., 1973. Uptake of 3H-testosterone and influence of an antiandrogen in tissues of rainbow trout *Salmo gairdneri*. General and Comparative Endocrinology. Vol. 21, pp: 60-68.
 13. Siawrys, G.; Bogacka, I.; Okrasa, S.; Kaminski, T. and Przala, J., 2002. The effect of stimulators and blockers of adrenergic receptors on LH secretion and cyclic nucleotide (cAMP and cGMP) production by porcine pituitary cells in vitro. Animal Reproduction Science. Vol. 69, pp: 73-89.
 14. Stacey, N.E. and Sorensen, P.W., 2002. Fish hormonal pheromones. In: Pfaff, D.W., Arnold, A.P., Etgen, A., Fahrbach, S., Rubin, R. (Eds.). Hormones, Brain, and Behavior. Vol. 2, pp: 375-435.
 15. Ünal, G.; Erdogan, E.; Oguz, A.; Kaptaner, R.B.; Kankaya, E. and Elp, M., 2008. Determination of hormones inducing oocyte maturation in *Chalcalburnus tarichi* (Pallas, 1811). Fish physiology and Biochemistry. Vol. 34, pp: 447-454.
 16. Vacher, C.; Ferrière, F.; Marmignon, M. H.; Pellegrini, E. and Saligaut, C., 2002. Dopamine D2 receptors and secretion of FSH and LH: role of sexual steroids on the pituitary of the female rainbow trout. General and Comparative Endocrinology. Vol. 127, pp: 198-206.
 17. Yu, K.L. and Peter, R.E., 1992. Adrenergic and dopaminergic regulation of gonadotropin-releasing hormone release from goldfish preoptic anterior hypothalamus and pituitary in vitro. General and Comparative Endocrinology. Vol. 85, No. 1, pp: 138-146.
 18. Yu, K.L.; Lin, X.W.; da Cunha Bastos, J. and Peter, R.E., 1997. Neural regulation of GnRH in teleost fish. In: Parhar, I.S. and Sakuma, Y. (eds.), GnRH Neurons: Gene to Behavior. Brain Shuppan, Tokyo, pp: 277-312.
 19. Zohar, Y.; Elizur, A.; Sherwood, N.M.; Powell, J.F.F.; Rivier, J.E. and Zmora, N., 1995. Gonadotropin-releasing activities of the three native forms of gonadotropin-releasing hormone present in the brain of gilthead seabream, *Sparus*

هستند. به علاوه میزان بالای غلظت 17α -OHP در ماهیان مربوط به ماده‌هایی بود که رسیدگی نهایی اووسیت و تخم‌ریزی داشتند. در بررسی Ünal و همکاران در سال 2008، مشخص گردید که سطح 11-deoxycortisol (11-DOC) و به دنبال آن 20β -S و 17α -OHP در بالاترین سطح خود در آغاز رسیدگی قرار داشتند. بررسی‌ها نشان دادند که 11-DOC ، $17,20\beta$ -S و 20β -S در رسیدگی اووسیت مؤثر واقع شدند، اما 11-DOC به عنوان مؤثرترین هورمون عمل نمود. تیمارهای Ovaprim، OLZ+BUS+SLB، CZ+BUS و OLZ+SLB در پژوهش حاضر، دارای سطح بالایی از هورمون 17α -OHP در ساعت 12 پس از تزریق بودند و با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند. بین ساعات صفر تمامی تیمارها، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. با افزایش سطح هورمون مذکور تخم‌گذاری و رسیدگی نهایی اووسیت تسریع شده و منجر به تخم‌ریزی موفق گردیده‌است. این هورمون معکوس استرادیول عمل نموده‌است و چون از یک طرف به عنوان پیش‌سازی برای آندرواستندیون و تستوسترون محسوب می‌گردد، در زمان زرده‌سازی موقتاً کاهش پیدا نموده اما از طرف دیگر پیش‌سازی نیز برای هورمون‌های حد واسط بلوغ و ایجاد کننده رسیدگی نیز می‌باشد که در زمان تخم‌گذاری و رسیدگی نهایی اووسیت اثر افزایشی مجدد پیدا می‌کند. بنابراین بهترین کیت ترکیبی در افزایش راندمان رسیدگی نهایی اووسیت و تخم‌گذاری به جهت کاهش هرچه بیشتر هورمون استرادیول و افزایش هورمون هیدروکسی پروژسترون در ساعت 12 پس از تزریق در ماهی سفید، به کارگیری یک آنتاگونیست قوی نسل سوم مانند اولانزابین به همراه GnRH α (بوسرلین) و آگونیست سیستم آدرنرژیک مانند سالبوتامول می‌باشد، که اثرات سه‌گانه این ترکیبات رسیدگی نهایی را در ماهی سفید ارتقاء می‌دهد. در کنار این ترکیبات می‌توان ذکر نمود که Ovaprim به طور قاطع یک محرک مناسب جهت افزایش راندمان تکثیر و هزینه مناسب نیز می‌باشد، طوری که بیشترین تغییرات مناسب و مطلوب هورمون‌های سنجش شده در گونه ماهی سفید دریای خزر را ایجاد نمود. به این ترتیب می‌توان نتیجه‌گیری نمود که فرضیه اصلی این تحقیق مبنی بر کارایی بالاتر آنتاگونیست-های نسل سوم دوپامین در مقایسه با نسل اول و دوم، به طور قطع پذیرفته می‌گردد، به همین خاطر می‌توان از آنتاگونیست‌های نسل سوم در جهت تسریع رسیدگی نهایی اووسیت و تخم‌گذاری در ماهی سفید استفاده نمود.

منابع

1. Ahmadnezhad, M.; Oryan, Sh.; Hosseinzadeh Sahafi, H.; Khara, H. and Sattari, M., 2012. Effects of LHRH-A₂ and Chlorpromazine (dopamine antagonist) on inducing spawning in Caspian Kutum from the southwest of Caspian Sea. Caspian Journal of Environmental Sciences. Vol. 10, pp: 33-42.
2. Chaube, R.; Singh, R.K. and Joy, K.P., 2012. Estrogen regulation of brain vasotocin secretion in the catfish *Heteropneustes fossilis*: an interaction with catecholaminergic system. General and Comparative Endocrinology. Vol. 175, pp: 206-213.
3. Falahatkar, B.; Poursaeid, S.; Langroudi, H.E.; Efatpanah, I.; Meknatkhah, B. and Rahmati, M., 2013. Spawning induction in kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii) with different hormones: analysis of hormone profiles and induce



aurata. General and Comparative Endocrinology. Vol. 97, pp: 289-299.

