Archive of SID

بررسی تعیین بهترین دوز تزریقی هورمون $LHRHa_2$ و ترکیبات متوکلوپرامید و کلرپرومازین از طریق سنجش GTH II در ماهی سیم ماده *Abramis brama orientalis* (Berg, 1905)

سارا کوهی‌لای*[۱]، شهربانو عریان[۲] و همایون حسین‌زاده‌صحافی[۳]

[۱] کارشناس‌ارشد بیولوژی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، ایران

[۲] استاد گروه بیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم، ایران

[۳] استادیار مؤسسه تحقیقات شیلات ایران، ایران

(تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۲۰، تاریخ تصویب: ۸۸/۱۲/۲۵)

چکیده

در پژوهش حاضر هورمون $LHRHa_2$، به همراه ترکیبات متوکلوپرامید و کلرپرومازین (جهت تعیین بهترین دوز تزریقی)، به ۵۲ عدد ماهی سیم ماده *Abramis brama orientalis*، به روش داخل عضلانی تزریق گردیدند. این دوزها شامل (μg/kg ۴ و ۳ ، ۲ ، ۱) برای هورمون $LHRHa_2$، (mg/kg ۲۰ و ۱۵ ، ۱۰ ، ۵) برای ترکیب متوکلوپرامید و (mg/kg ۱۲ و ۱۰ ، ۵ ، ۲) برای ترکیب کلرپرومازین بودند. ماهیان طی تیمارهای پنج گانه تقسیم بندی شده سپس محلول‌های تزریقی ترکیبات مذکور آماده گردیدند. مراحل اجرایی کار شامل عملیات تزریق به صورت داخل عضلانی و عملیات خونگیری از طریق قوس خونی بودند. در ادامه سنجش GTH II به روش رادیوایمونواَسی صورت پذیرفت. نتایج نشان دادند که هر سه ترکیب $LHRHa_2$، متوکلوپرامید و کلرپرومازین به شکل تحریکی منجر به افزایش GTH II گردیده و در سطح ($P<۰/۰۵$)، در دوزهای اپتیممی، باعث ایجاد اختلاف معنی‌دار شدند. هورمون $LHRHa_2$ در دوز اپتیمم (μg/kg ۳) منجر به افزایش GTH II به میزان (۰/۵۵۴ IU/L)، ترکیب متوکلوپرامید در دوز اپتیمم (mg/kg ۵) منجر به افزایش GTH II به میزان (۰/۶۱۸ IU/L) و ترکیب کلرپرومازین در دوز اپتیمم (mg/kg ۱۰) منجر به افزایش GTH II به میزان (۰/۵۲۲ IU/L)، گردیدند.

واژه‌های کلیدی: دوز اپتیمم، $LHRHa_2$، متوکلوپرامید، کلرپرومازین، GTH II، ماهی سیم *Abramis brama orientalis*

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱-۲۲۹۷۷۸۶۱ فاکس: ۰۲۱-۲۲۹۷۷۸۶۱ E-mail: s_koohi@iau-tnb.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کنترل هورمونی امروزه به عنوان یک ابزار در جهت تکثیر و پرورش آبزیان به کار گرفته شده است. یکی از روش‌های جدید کنترل تولیدمثل و رشد ماهی در آبزی پروری، استفاده از هورمون‌ها می‌باشد. کاربرد هورمون‌ها در آبزی پروری عموماً معطوف به مسائلی نظیر القاء به تخم ریزی، ایجاد تک جنس نر یا ماده، ایجاد بلوغ جنسی و یا عقیم سازی و در نهایت رشد ماهی می‌باشد. در رابطه با زیرگونه *Abramis brama orientalis* در کشور گزارشات پایش کمی و کیفی و مقالات مختلفی مرتبط با نحوه تکثیر و پرورش این زیر گونه ارائه گردیده است بطوری که عمدتاً بواسطه در معرض خطر بودن ذخایر این زیرگونه در دریای خزر بوده است. در این تحقیقات از ترکیبات و هورمون های مختلفی برای تکثیر این زیرگونه استفاده گردید که می‌توان به عصاره هیپوفیز، GnRHa و LHRHa اشاره نمود، به نحوی که قناعت پرست در سال ۱۳۷۲ با بررسی روش های مختلف تکثیر ماهی سیم از ترکیباتی چون LRH-A و CPE در تکثیر مصنوعی آن استفاده کرده و تخم ریزی را در ماهی سیم القاء نمود. بر روی گونه *Abramis brama* L. نیز تحقیقات متعددی در دنیا صورت گرفته است، که یکی از بارزترین آنها توسط Kucharczyk و همکاران در سال ۲۰۰۵ بود بطوری که تعیین گردید که آنالوگ GnRH (GnRHa)، در حالت ترکیبی با آنتاگونیست دوپامین (Ovopel) به خوبی در گونه مذکور تحریک ایجاد می‌کند و مشخص گردید که در تخم ریزی موفق ماهی سیم استفاده از ترکیبات CPE و HCG، به همراه تغییرات درجه حرارت آب می‌تواند تأثیر گذار باشد در حالی که یک Ovopel محتوی GnRHa به همراه ترکیب متوکلوپرامید در تخم ریزی بسیار مؤثرتر عمل می‌کند. Glubokov و همکارانش نیز در سال ۱۹۹۱ اثر آنالوگ LHRH و آنتاگونیست‌های دوپامین در بلوغ جنسی ماهی سیم *Abramis brama* را بررسی کردند، بطوری که در استفاده از آنتاگونیست‌هایی مثل Metoclopramide و Eglonil در کنار LHRHa به این نتیجه رسیدند که اثرات Eglonil به مراتب کمتر از Metoclopramide بوده ولی موجب تحریک بلوغ در ماهیان سیم ماده می گردد. Horvath و همکاران نیز در سال ۱۹۹۷ به یک تکنیک جدید در تحریک اوولاسیون کپورماهیان با استفاده از پلت محتوی GnRHa دست یافتند، بطوری که این ovopel محتوی آنالوگ GnRH پستانداران در دوز (μg/kg ۲۰-۱۸)و آنتاگونیست دوپامین مانند متوکلوپرامید با دوز (mg/kg۱۰-۸) می‌باشد. Chang و Peter در سال ۱۹۸۴، دریافتند که القاء پیموزاید در ماهی طلایی، کپور معمولی و تیمار استرادیول در مارماهی و گربه ماهی به همراه نیروی قوی LHRHa منجر به آزادسازی GTH می گردد، بطوری که در موارد مشابهی متوکلوپرامید با LHRHa منجر به آزادسازی GTH در ماهی طلایی می‌گردد. در تمام مهره‌داران فعالیت تولیدمثل به وسیله یک سیستم درون ریز شامل محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد، کنترل می گردد (Kobayashi *et al.,* 1992; Saligaut *et al.,* 1999; kumakura *et al.,* 2004). تخم ریزی در ماهیان پرورشی می‌تواند بوسیله افزایش سنتز GTH با استفاده از GnRH یا بوسیله یک آنالوگ فوق فعال در ترکیب با یک آنتاگونیست دوپامین ایجاد شود (Peter *et al.,* 1988) LHRH سنتتیک پستانداران که به عنوان یک آنالوگ فوق فعال جهت تحریک آزادسازی GTH در گونه‌های مختلف ماهیان استخوانی استفاده می گردد، دارای اثرات مختلفی بر رسیدگی اووسیت و اوولاسیون نیز می باشد (Donaldson & Hunter, 1983) و این نشان از یک همپوشانی در فعالیت بیولوژیکی LHRH و GnRH می‌باشد (De Leeuw *et al.,* 1987). آزمایشات نیز نشان می دهند که اوولاسیون موفق با LHRHa در دوره بهاره محدود است (Donaldson & Hunter, 1983). در قزل‌آلای رنگین کمان و سایر آزاد ماهیان، تزریق LHRHa همزمان با پیشرفت اوولاسیون منجر به کاهش E_2 پلاسما گشته و یک پیک کوتاه در تستوسترون پلاسما و یک پیک بزرگ پیش اوولاسیون در سطح پلاسما از هورمون‌های 17,20β-dihydroxy-4-

www.SID.ir

Archive of SID

pregnen-3-one (17,20βP) توأماً ایجاد می‌نماید (Pankhurst & Thomas, 1998). همچنین در گربه ماهیان، ترکیب LHRHa به همراه ترکیبات دارویی Org30067 و Org5222 موج عظیمی از GTH را ۸-۴ ساعت پس از اجرای تیمار، قبل از اوولاسیون ایجاد می‌کند (Goos *et al.*, 1987). عمل ترکیبی آنتاگونیست دوپامین و آگونیست GnRH (GnRHa یا LHRHa) که طبق روش Linpe اثبات شده است (Peter et al., 1988)، موفقیت زیادی را در ایجاد رسیدگی جنسی اووسیت در تعدادی از گونه‌های ماهیان استخوانی به دست آورده است. به علاوه نقش دوپامین در آغاز بلوغ نیز قابل توجه می‌باشد مانند مرحله Juvenile در ماهی Spade fish (*Chaetodipterus faber*) که فعالیت سیستم دوپامینرژیک در هیپوتالاموس هنگام بلوغ کاهش پیدا می کند، بنابراین مهار سیستم دوپامینرژیک جهت آزادسازی گنادوتروپین‌ها برای آغاز بلوغ ضروری است (Marcano *et al.*, 1995).

مواد و روش‌ها

در پروژه حاضر، آزمایش بر روی ۵۲ عدد ماهی سیم ماده در اردیبهشت ۱۳۸۶، صورت پذیرفت. فصل و زمان اصلی تکثیر ماهی سیم در اردیبهشت ماه و همزمان با افزایش درجه حرارت آب صورت می گیرد. بر اساس تحقیقات صورت گرفته، ماهیان سیم در فصل تکثیر هیچگونه تغذیه ای ندارند. پس از تگ گذاری ماهیان با استفاده از پلاک های مخصوص، با استفاده از ترازو وزن کشی شدند تا میزان دقیق تزریق هر ترکیب به هر ماهی با وزن مخصوص خود، مشخص شود. به این ترتیب ماهیان مورد نظر در ۵ تیمار شامل $LHRHa_2$، متوکلوپرامید، کلرپرومازین، کنترل مثبت (سالین) و کنترل منفی (گروه دست نخورده و بدون هیچ تزریق) تقسیم بندی شدند، در هر یک از ۳ تیمار اول ۱۲ نمونه ماهی و در هر تیمار دوزهای انتخابی برای تعیین بهترین دوز، ۴ دوز در نظر گرفته شد، به طوری که هر دوز به سه ماهی تزریق شد. برای هورمون $LHRHa_2$ دوزهای (۴ و ۳ ، ۲ ، ۱ µg/kg)، برای ترکیب متوکلوپرامید دوزهای (۲۰ و ۱۵ ، ۱۰ ، ۵ mg/kg) و برای ترکیب کلرپرومازین دوزهای (۱۲ و ۱۰ ، ۵ ، ۲ mg/kg) در نظر گرفته شد و در هر یک از تیمارهای کنترل مثبت و کنترل منفی نیز ۸ نمونه ماهی وجود داشت. پس از اینکه محلول‌های تزریقی بلافاصله قبل از تزریق آماده شدند، عملیات تزریق به صورت داخل عضلانی انجام گردید. جهت تزریق از سرنگ های انسولین استفاده گردید. سوزن سرنگ با زاویه کمتر از ۴۵° در بخش پایه باله سینه ای در داخل عضله وارد گردیده و عمل تزریق به آرامی صورت پذیرفت (Sharifi & Ramin, 1990). ۵ ساعت پس از انجام تزریق عمل خونگیری انجام گردید. خونگیری با استفاده از سرنگ های ۲ cc و با وارد کردن سر سوزن آن از ناحیه بین دو فلس اول تا سوم بخش دمی، به درون قوس خونی انجام گردید (Hajizadeh, 1996)، قبل از خونگیری لازم بود که سرنگ جهت جلوگیری از لخته شدن خون به هپارین آغشته شود. پس از خونگیری بلافاصله محتویات داخل سرنگ به داخل لوله‌های آزمایشگاهی دربدار وارد گردیده سپس لوله‌ها شماره گذاری شده و جهت سنجش هورمون GTH II به آزمایشگاه منتقل شدند. سنجش نیز توسط روش رادیوایمونواَسی و بوسیله دستگاه تمام اتوماتیک گاما کانتر LKB صورت پذیرفت. در روش های آماری از آزمون غیرپارامتریک کروسکال-والیس و در ادامه با استفاده از آزمون Test of Homogeneity of Variances (آزمون برابری واریانس)، مشخص گردید که بین تیمارها از نظر فرض برابری واریانس ها، اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده می گردد یا خیر. بنابراین با توجه به دو آزمون فوق الذکر و تصادفی بودن داده‌ها نتیجه گرفته شد که برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی‌دار آماری بین دوزهای هر یک از تیمارها با تیمار کنترل و شاهد از نظر میانگین میزان سنجش GTH II، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و تست تکمیلی دانکن درسطح معنی‌دار (۰/۰۵) استفاده گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

تیمار $LHRHa_2$

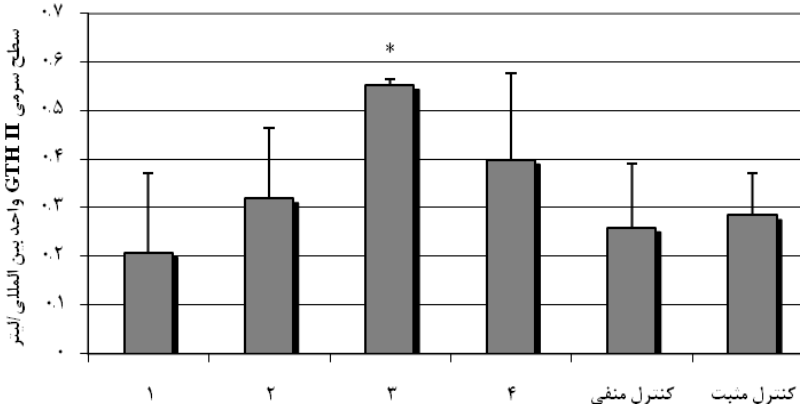
با توجه به آزمون غیرپارامتریک کروسکال- والیس مشخص گردید که بین دوزهای انتخابی (μg/kg ۴ و ۳، ۲، ۱)، $LHRHa_2$ با دوز (μg/kg ۳)، دارای بیشترین میانگین میزان سنجش GTH II با مقدار (IU/L ۰/۵۵۴) می‌باشد و با توجه به آزمون آنالیز واریانس یکطرفه مشخص گردید که در مقایسه بین دوزهای مختلف $LHRHa_2$ و تیمارهای کنترل و شاهد، اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد ($P<۰/۰۵$) (شکل ۱).

تیمار متوکلوپرامید

با توجه به آزمون غیرپارامتریک کروسکال- والیس مشخص گردید که بین دوزهای انتخابی (mg/kg ۲۰ و ۱۵، ۱۰، ۵)، متوکلوپرامید با دوز (mg/kg ۵)، دارای بیشترین میانگین میزان سنجش GTH II با مقدار (IU/L ۰/۶۱۸) می‌باشد و با توجه به آزمون آنالیز واریانس یکطرفه مشخص گردید که در مقایسه بین دوزهای مختلف متوکلوپرامید و تیمارهای کنترل و شاهد، اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد ($P<۰/۰۵$) (شکل ۲).

تیمار کلرپرومازین

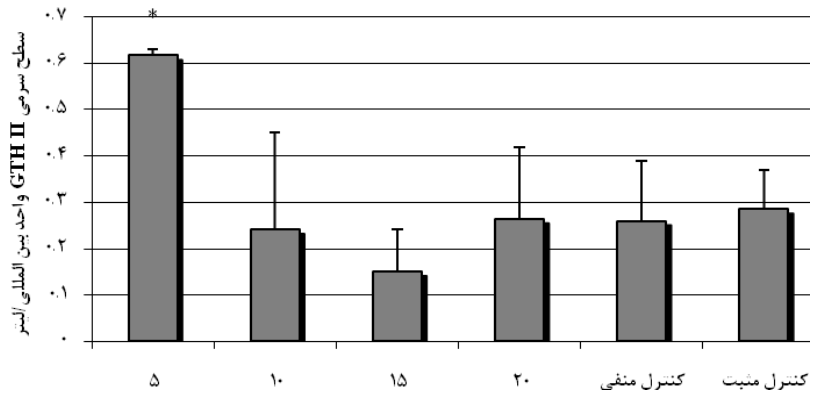
با توجه به آزمون غیرپارامتریک کروسکال- والیس مشخص گردید که بین دوزهای انتخابی (mg/kg ۱۲ و ۱۰، ۵، ۲)، کلرپرومازین با دوز (mg/kg ۱۰)، دارای بیشترین میانگین میزان سنجش GTH II با مقدار (IU/L ۰/۵۲۲) می‌باشد و با توجه به آزمون آنالیز واریانس یکطرفه مشخص گردید که در مقایسه بین دوزهای مختلف کلرپرومازین و تیمارهای کنترل و شاهد، اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد ($P<۰/۰۵$) (شکل ۳).



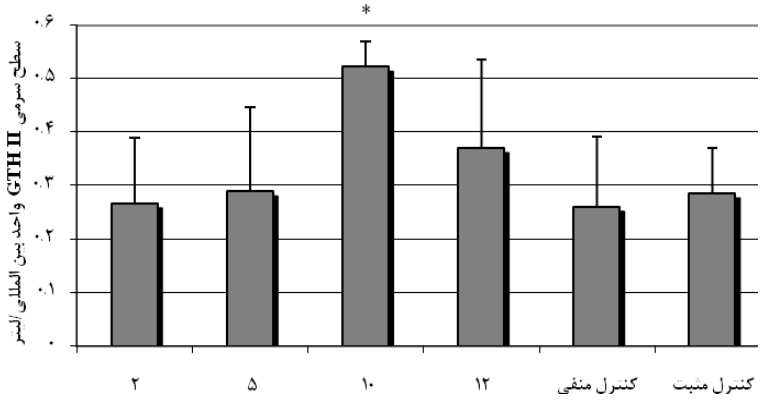
شکل ۱- مقایسه میانگین ± خطای استاندارد سطح سرمی GTH II در دوزهای مختلف ترکیب $LHRHa_2$، تیمارهای کنترل منفی و کنترل مثبت * وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح $P<۰/۰۵$

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- مقایسه میانگین ± خطای استاندارد سطح سرمی GTH II در دوزهای مختلف ترکیب متوکلوپرامید، تیمارهای کنترل منفی و کنترل مثبت * وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح P<۰/۰۵



شکل ۳- مقایسه میانگین ± خطای استاندارد سطح سرمی GTH II در دوزهای مختلف ترکیب کلرپرومازین، تیمارهای کنترل منفی و کنترل مثبت * وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح P<۰/۰۵

بحث و نتیجه‌گیری

طی تجربیات مربوط به تحقیق حاضر در رابطه با تعیین دوز اپتیمم هورمون $LHRHa_2$ مشخص گردید که دوز (۳ µg/kg) در مقایسه با سایر دوزهای به کار رفته(۴ و ۲، ۱ µg/kg) تیمارهای کنترل مثبت و کنترل منفی، دارای اختلاف معنی‌دار آماری بوده و به شکل موثری منجر به افزایش GTH II گردیده است. در گونه *Abramis brama* L. Glubokov و همکارا نش در سال ۱۹۹۱ بهترین و مؤثرین دوز LHRHa را از طریق میزان جوابدهی (تخم‌ریزی) در ماهیان مذکور برابر۵µg/kg معرفی کردند، ولی در زیرگونه *Abramis brama orientalis* تعیین دوز اپتیمم این هورمون از طریق سنجش هورمون در هیچ تحقیقی صورت نگرفته است. طی تحقیقاتی در باس دریایی سیاه مشخص گردید که ترکیب کلسترول-سلولز که شامل ۵۰ میکروگرم LHRHa (۵۰µg/kg) است، به طور موفقیت آمیزی موجب تخم ریزی متعددی در یک دوره طولانی می گردد ولی Berlinsky و همکاران در سال ۲۰۰۵ طی تحقیقاتشان مشخص نمودند که دوز اپتیمم LHRHa در باس دریایی سیاه در میزان 7.1 µg/kg برای انجام

www.SID.ir

Archive of SID

اوولاسیون بدون کاهش قدرت لقاح و باروری بسیار مؤثر می‌باشد. همچنین در گربه ماهیان یک تزریق mg ۵ از پی موزاید و mg ۰/۰۵ از LHRHa به ازای هر کیلوگرم وزن بدن منجر به اوولاسیون و رسیدگی اووسیت می شود و ۱۴-۱۲ ساعت پس از تزریق ماهی می تواند تخلیه و سپس لقاح تخم ها را انجام دهد (De Leeuw *et al.*, 1987). به دنبال تیمار با ترکیب LHRHa، اوولاسیون و تخم ریزی در Sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) ۱۴-۱۰ روز، در Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) ۲۵-۱۴ روز و در Atlantic salmon (*Salmo salar*) ۳۰-۱۵ روز به جلو پیشرفت می‌کند (Van Der Kraak *et al.*, 1985). تحقیقات صورت گرفته در Coho salmon و Atlantic salmon نشان داد که تأثیرات LHRHa بر سطح استروئیدهای گنادی پلاسما به صورت یک اثر افزایشی در GTH پلاسما وجود دارد، که در ادامه منجر به کاهش فعالیت آروماتاز و تحریک افزایش فعالیت 20β-HSD می گردد (Young *et al.*, 1983).

در پروژه حاضر، طی تیمار مربوط به تعیین دوز اپتیمم ترکیب متوکلوپرامید، مشخص گردید که دوز mg/kg ۵ در مقایسه با سایر دوزها شامل mg/kg ۲۰ و ۱۵، ۱۰، سطح GHT II سرم خون را در میزان بالاتری افزایش می‌دهد بطوری که این دوز دقیقاً با دوز متوکلوپرامید در بسیاری از تحقیقات مربوط به ماهی سیم مطابقت دارد. این درحالی است که سطح GTH II در تیمار مربوط به دوز mg/kg ۵ در مقایسه با تیمارهای کنترل مثبت و کنترل منفی دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد. همانطور که در بالا نیز ذکر گردید، Glubokov و همکاران در سال ۱۹۹۱ هورمون µg/kg LHRHa ۵ را در ترکیب با آنتاگونیست دوپامین، متوکلوپرامید در دوز mg/kg ۵، در ماهی سیم آزمایش نمودند. در آزاد ماهیان با القاء آنالوگ LHRH سطح سرمی GHT II افزایش یافته و GHT II آزادشده در تحریک تولید 17α-hydroxyprogestrone (17α-OHprog)، بوسیله لایه تکا و تولید DHP (استروئید ایجاد کننده رسیدگی در آزاد ماهیان) توسط لایه گرانولوزا در حضور 17α-OHprog بسیار مؤثر است (Nagahama *et al.*, 1995). طبق نتایج یک بررسی نیز مشخص گردید که تزریق MET (Metoclopramide) و سایر آنتاگونیست‌های دوپامین در دوزهای mg/kg ۴۰-۵، هر کدام به تنهایی نمی‌توانند باعث رسیدگی جنسی در کپور تایلندی جهت تخم‌ریزی شوند (Sukumasavin *et al.*, 2000). در ماهی کپور معمولی *Cyprinus carpio* تزریق mg/kg ۵ از دامپریدون به همراه LHRHa به میزان µg/kg ۱۰ در تخم‌ریزی مؤثر می‌باشد و تخم ریزی در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد در طی مدت ۱۴ تا ۱۶ ساعت اتفاق می‌افتد. در کپور معمولی همچنین تزریق µg/kg ۱۰ LHRHa، به همراه mg/kg ۲۰ متوکلوپرامید که در ۰.۵ سی سی نمک ۰.۷ درصد حل شده است بسیار مؤثر خواهد بود.دراین حالت تخم ریزی در دمای ۲۰.۵ درجه سانتی‌گراد پس از ۲۱-۱۹ ساعت رخ می‌دهد. در ماهی‌های پهن Flounder با نام علمی *Pseudopleuronectes americanus* کاشت هورمون در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد به صورت قرص‌های ۴۰mg/kg از LHRHa که با نسبت ۵۰:۵۰ از کلسترول و سلولز مخلوط شده است، صورت می‌گیرد و بعد از ۵ تا ۲۵ روز تخم‌ریزی روی خواهد داد (Argent Labratories, 1995). در پژوهش حاضر طی آزمایشات مربوط به تعیین دوز اپتیمم کلرپرومازین مشخص گردید که دوز mg/kg ۱۰ بهترین دوز تزریقی می‌باشد که می‌تواند سطح GTH II را در مقایسه با سایر دوزها (mg/kg ۱۲ و ۵ ، ۲)، تیمارهای کنترل مثبت و کنترل منفی افزایش دهد و اختلاف معنی‌داری ایجاد کند. ترکیب کلرپرومازین در رابطه با سیستم تولیدمثلی ماهیان تا به حال بررسی نشده است، ولی در سایر جانداران مشخص شده که این ترکیب در دوزهای خیلی بالا سطوح ترشحی LH و FSH را کاملاً بلوکه می‌نماید. همانطور که در بیشتر تحقیقات مشخص شده است، تعیین دوز اپتیمم هر کدام از ترکیبات مختلف معمولاً از طریق جوابدهی و بررسی اوولاسیون و تخم‌ریزی در ماهیان صورت می‌گیرد. تعیین بهترین دوز تزریقی در ماهیان از طریق سنجش

www.SID.ir

Archive of SID

هورمون معمولاً تأکید و بررسی نشده است. بدین ترتیب با به دست آوردن دوزهای اپتیمم ترکیبات هورمونی یا شیمیایی تحریک کننده، می توان در مراحل بعدی کار این ترکیبات را به صورت انفرادی یا ترکیبی طی تیمارهایی آزمایش نموده و میزان دقیق تأثیر آنها را از طریق جوابدهی (تخم ریزی ماهیان) یا سنجش هورمون های تولیدمثلی بررسی نمود. بنابراین ترکیبات آزمایش شده در تحقیق حاضر شامل $LHRHa_2$، متوکلوپرامید و کلرپرومازین در دوزهای اپتیمم به دست آمده دارای اثر تحریکی بوده و به شکل مؤثر و معنی‌داری منجر به افزایش سطح GTH II خون گردیدند.

تشکر و قدردانی

در پایان از همراهی و همیاری سازمان شیلات ایران کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

منابع

- Argent Labratories., 1995. Report on endocrine techniques in aquaculture, induced spawning, maturation and sex reversal, 35. Redmond, USA.
- Berlinsky, D.V., King, W., Smith, T.I.J., 2005. Use of luteinizing hormone releasing hormone analogue for ovulation induction in black sea bass (*Centropristis striata*). Aquaculture, vol. 250. pp. 813-822.
- Chang, J. P and Peter, R. E., 1984. Effects of pimozide and des Gly^{10}, [D-Ala^6] luteinising hormone-releasing hormone ethylamide on serum gonadotropin concentration, germinal vesicle migration, and ovulation in female gold fish, *Carassius auratus*. Gen. Comp. Endocrinol, vol. 52. pp. 30-37.
- De Leeuw, R., Goos, J.TH., Van W.J., 1987. The regulation of gonadotropin release by neurohormones and gonadal steroids in African catfish (*Clarius gariepinus*). Aquaculture, vol. 63. pp. 43 – 58.
- Donaldson, E.M., Hunter, G.A., 1983. Induced final maturation, ovulation and spermisation in fish cultured. Fish Physiology, vol. 9, part. 2, pp. 351 – 403.
- Ghanaat parast, A., 1993. Culture of bream by LRH-A and CPE, M.Sc Thesis, Fisheries Dept., Islamic Azad University, Tehran North Branch. 242 pp.
- Glubokov, A.I., Motloch, N.N., Sedova, M.A., 1991. The effect of a synthetic LHRH analogue and dopamine antagonist on the maturation of bream (*Abramis brama* L.). Aquaculture, vol. 95. Issues. 3–4. pp. 373–377.
- Goos, J.TH., De Leeuw, R., Van, W.J., Delft, M.L., Glielen, J.TH., 1987. The effect of luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRHa) in combination with different drugs with anti-dopamine and anti-serotonin properties on gonadotropin release and ovulation in African catfish (*Clarius gariepinus*). Aquaculture, vol. 63. pp. 143–156.
- Hajizadeh, A., 1996. The measurement of FSH, LH, estrogene and progestrone in *Acipenser stellatus stellatus* to obtain the optimum time of injection CPE, M.Sc Thesis, Fisheries Dept., Islamic Azad University, Lahijan Branch. 115 pp.
- Horvath, L., Szabo, T., Burke, J., 1997. Hatchery testing of GnRH analogue-containing pellets on ovulation in four cyprinid species. Pol. Arch. Hydrobiol, vol. 44. pp. 221-226.
- Kobayashi, M., Amano, M., Hasegawa, Y., Okuzawa, K., Aida, K., 1992. The effects of olfactory tract section on brain GnRH distribution plasma gonadotropin levels and gonadal stage in goldfish. Zoology Science, vol. 9. pp. 765 – 773.

www.SID.ir

Archive of SID

- Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Targonska, K., Wyszomirska, E., Glogowski, J., Babiak, I. and Szabo, T., 2005. Inducing spawning in bream (*Abramis brama* L.) using pellets containing GnRH. Czech Journal of Anim. Sci., vol. 3. pp. 89 – 95.

- Kumakura, N., Okuzawa, K., Gen, K., Yamaguchi, S., Lim , B.S., Kagawa, H., 2004. The effect of gonadotropin releasing hormone on pituitary – ovarian axis of one-year old pre-pubertal red sea bream. General and Comparative Endocrinology, vol. 138, pp. 105 – 112.

- Marcano, D., Guerrero, H., Gago, N., Cardillo, E., Requena, M., Ruiz, L., 1995. Monoamine metabolism in the hypothalamus of the juvenile teleost fish. Chaetodipterus faber. In: Goetz, F.W., Thomas, P. (Eds), Proceedings of Fish International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Austin, pp. 64-66.

- Nagahama, Y., Yashikuni, M., Yamashita, m., Tanaka, M., 1995. Regulation of oocyt growth maturation in fish. Fish Physiology, vol. XIII, PP. 393 – 439.

- Pankhurst, N.W., Thomas, P.M., 1998. Maintenance at elevated temperature delays the steroidogenic and ovulatory responsiveness of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss)* to luteinizing hormone releasing hormone analogue. Aquaculture, vol. 166. pp. 163 – 177.

- Peter, R.E., Lin, H.R., Van Der Kraak, G., 1988. Induced ovulation and spawning cultured fresh water fish in China: advances in application of GnRH analogues and dopamine antagonists. Aquaculture, vol. 74, pp. 1 – 10.

- Saligaut, C., Linard, B., Breton, B., Anglade, I., Bailhache, T., Kah, O., Jego, P., 1999. Brain aminergic system in salmonids and other teleosts in relation to steroid feedback and gonadotropin release. Aquaculture, vol. 177. pp. 13 – 20.

- Sharifi, A., Ramin, M., 1990. Artificial spawning biotechnic in bream, Iranian Fisheries Research Organization. 31 pp.

- Sukumasavin, N., Sakulthong, S., Sangthong, R., 2000. A Comparison of the potency of dopamine antagonists on spawning induction in tail carp (*Puntius gonionotus* Bleeker). Kasetsart, vol. 34. pp. 240 – 247.

- Van Der Kraak, G., Dye, H., Donaldson, E.M., Hunter, G.A., 1985. Plasma gonadotropin, 17β-estradiol and 17α,20β, dihydroxy-4-pregnen-3-one levels during luteinizing hormone-releasing hormone analogue and gonadotropin induce ovulation in coho salmon. Canadian. Journal of Zoology, Vol. 63. pp. 824-833.

- Young, G., Crim, L.W., Kagawa, H., Kambegawa, A., Nagahama, Y., 1983. Plasma 17α,20β dihydroxy-4-pregnen-3-one levels during sexual maturation of amago salmon: correlation with plasma gonadotropin and in vitro production by ovarian follicles. Gen. Comp. Endocrinol, Vol. 51. pp. 96-105.

www.SID.ir

Archive of SID

The study of $LHRHa_2$, Metoclopramide and Chlorpromazine's optimum dose, by measurment of GTH II plasma in female bream (*Abramis brama orientalis)* (Berg,1905)

S. Koohilai[*1], Sh. Oryan[2] and H. Hosseinzadeh Sahafi[3]

[1] M. Sc., Marine Biology Dept., Tehran North Branch, Islamic Azad University, I.R.Iran
[2] Professor, Biology Dept., Science Faculty, Tarbiat Moalem University, I.R.Iran
[3] Assistant Prof, Iranian Fisheries Research Organization, I.R.Iran

(Received: 10 May 2009, Accepted: 16 March 2010)

Abstract

In the present study $LHRHa_2$ was tested along with Metoclopramide and Chlorpromazine on 52 pieces of *Abramis brama orientalis* in May 2008. In order to identify the optimum doses which were proved to be (1, 2, 3, 4 μg/kg) for LHRHa , (5, 10, 15, 20 mg/kg) for Metoclopramide and (2, 5, 10, 12 mg/kg) for Chlorpromazine. The treatment sample fish were classified into five categories, and then the injected solvents were prepared. The procedures of the study included injection operations into the muscles and cupping was in the form of sagittarius hemal. After that, GTH II was conducted on the basis of RIA. The findings proved that all the compositions in a stimulating process resulted in an increase in the ration of GTH II and at $P<0.05$ resulted in meaningful differences in optimum dose. $LHRHa_2$ (3 μg/kg) led to 0.554 IU/L, Metoclopramide (5 mg/kg) caused 0.618 IU/L and also Chlorpromazine (10 mg/kg) resulted in 0.522 IU/L increase in the ratio of GTH II.

Keywords: Optimum dose, $LHRHa_2$, Metoclopramide, Chlorpromazine, GTH II, Bream (*Abramis brama orientalis*) (Berg, 1905)

*Corresponding author: Tel: +98 21 22977861 , Fax: +98 21 22977861 , E-mail: s_koohi@iau-tnb.ac.ir

www.SID.ir