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

- **سارا کوهی‌لای***: گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۷۷۵-۱٤٥۱٥
- **شهربانوعریان**: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه خوارزمی، تهران
- **همایون حسین‌زاده‌صحافی**: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، صندوق پستی: ٦۱۱٦- ۱٤۱٥٥
- **پرگل قوام‌مصطفوی**: گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۷۷۵-۱٤٥۱٥
- **صفیه بهزادی**: گروه روانشناسی بالینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن، رودهن

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹٤ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹٥

چکیده

ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* یکی از گونه‌های ارزشمند تجاری و بومی دریای خزر است. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات به‌کارگیری آنتاگونیست‌های نسل سوم سیستم دوپامینرژیک و آگونیست و آنتاگونیست سیستم آدرنرژیک به‌همراه هورمون‌های هیپوتالاموسی، آگونیست GnRH (Buserelin) و Ovaprim بر تغییرات سرمی هورمون‌های 17β-estradiol (E_2) و 17α-hydroxyprogeterone (17α-OHP) در گونه مذکور است. ۱۱۷ ماهی سفید پیش‌مولد ماده برای انجام این تحقیق انتخاب شدند. ترکیبات در دوزهای مورد نظر شامل: Salbutamol Sulphate (SLB) دوز ٤ میلی‌گرم، Olanzapine (OLZ) دوز ٥ میلی‌گرم، Clozapine (CZ) دوز ۱۲ میلی‌گرم، Metoprolol Tartrate (MTP) دوز ٥ میلی‌گرم، Buserelin Acetate (BUS) دوز ٥ میکروگرم و Ovaprim دوز ۰/٥ میلی‌لیتر به‌ازاء هر کیلوگرم وزن بدن، بودند. ترکیبات مذکور در قالب ۱۰ تیمار ترکیبی از هورمون و داروها، تقسیم‌بندی شدند: گروه ۱) OLZ+SLB، گروه۲) OLZ+MTP، گروه۳) OLZ+BUS، گروه٤) CZ+SLB، گروه٥) CZ+MTP، گروه ٦) CZ+BUS، گروه۷) OLZ+BUS+SLB، گروه۸) OLZ+BUS+MTP، گروه۹) CZ+BUS+SLB، گروه ۱۰) CZ+BUS+MTP. سه گروه شاهد مثبت (نرمال سالین)، شاهد منفی (بدون تزریق) و مرجع (اواپریم) نیز درنظر گرفته شدند. نتایج نشان دادند که سطح هورمون E_2 قبل از القاء ترکیبات در ساعت صفر بالا بوده درحالی‌که پس از القاء ترکیبات و در ساعت ۱۲ پس از تزریق، کاهش پیدا کرده است. در ساعت ۱۲، تیمارهای Ovaprim، OLZ+BUS+SLB و CZ+BUS در مقایسه با سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار آماری بودند ($p<0/01$). تیمارهای OLZ+SLB، OLZ+MTP، CZ+SLB، OLZ+BUS+MTP و CZ+BUS+SLB نیز به‌صورت $p<0/05$ 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 به‌طوری‌که اووسیت‌ها به مراحل پایانی رسیدگی و تخمک‌گذاری که نزدیک شدند، سطح این هورمون افزایش یافت (ساعت ۱۲). تیمارهای Ovaprim، OLZ+BUS+SLB، CZ+BUS و OLZ+SLB با سایر تیمارها در ساعت ۱۲، 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 به‌همراه آگونیست‌های آدرنرژیک و GnRHa در ماهی سفید بسیار مؤثر عمل نموده‌اند.

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

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: s.koohi@srbiau.ac.ir

مقدمه

ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* یکی از گونه‌های ارزشمند تجاری و بومی دریای خزر است. با توجه به‌دلایلی مانند صید بی‌رویه و نیز نامساعد شدن مناطق تخم‌ریزی طبیعی، ذخایر این ماهی در رودخانه‌ها و تالاب انزلی به‌شدت کاهش یافته‌است، از این‌رو 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، به‌طوری‌که راندمان مناسبی حاصل نشد، اخیراً نیز طی تحقیقات به‌عمل آمده توسط Ahmadnezhad و همکاران (۲۰۰۸)، از LHRHa به‌همراه آنتاگونیست‌های دوپامین مانند پیموزاید و کلرپرومازین در تکثیر مصنوعی گونه مذکور استفاده گردید، به‌طوری‌که در تیمار ترکیبی LHRHa+ پیموزاید و تیمار عصاره هیپوفیز راندمان مناسبی را در تخم‌ریزی این گونه ایجاد نمودند، هم‌چنین Falahatkar و همکاران (۲۰۱۳) از ترکیب Ovaprim، hCG، CPE و LHRHa در القاء تخم‌ریزی و تخمک‌گذاری ماهی سفید استفاده نمودند که تیمارهای Ovaprim و CPE نتیجه مثبت و راندمان بالایی داشتند. Heyrati و همکاران نیز (۲۰۰۷) با استفاده از GnRHa ۲۰ میکروگرم و دامپریدون ۱۰ میلی‌گرم به راندمان ۱۰۰٪ تخم‌ریزی و اوولاسیون در ماهی سفید دست یافتند. به‌همین منظور به‌دست 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 یک پدیدهٔ اساسی فیزیولوژیک است که به‌وسیلهٔ آن موجودات زنده بقاء خود را تضمین می‌نمایند. در برنامه‌ریزی فعالیت‌های تکثیر و پرورش، پیش‌بینی 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، ۱۹۹۷). این دکاپپتید آزادسازی گنادوتروپین (GTH) را از هیپوفیز تحریک می‌کند (Kobayashi و همکاران، ۱۹۹۷). در برخی ماهیان به‌خصوص نمونه‌های آب شیرین، دوپامین دارای اثر مهاری بر آزادسازی گنادوتروپین هیپوفیز می‌باشد (Peter و Yu، ۱۹۹۷). در تمام گونه‌ها GnRH، آزادکننده قوی گنادوتروپین است (Zohar و همکاران، ۱۹۹۵). ماده‌هایی که در مرحله رسیدگی نهایی قرار دارند هنگامی که در معرض عوامل خاص محیطی قرار گیرند، موجی از هورمون زرده‌ساز (LH) جهت تخمک‌گذاری که حدود ۱۵ ساعت به‌طول می‌انجامد، آزاد می‌گردد (Kobayashi و همکاران، ۲۰۰۲؛ Stacey و Sorensen، ۲۰۰۲). به‌دنبال آن استروئیدهای ایجادکنندهٔ رسیدگی (MIS) را در لایهٔ فولیکولی برای ایجاد رسیدگی نهایی اووسیت تحریک می‌نماید. محققین مشخص نمودند که دوپامین مهار آزادسازی گنادوتروپین‌ها را احتمالاً به‌وسیلهٔ رسپتورهای دوپامین (D_2-like) مشابه آن‌چه در پستانداران وجود دارد، انجام می‌دهد.

امروزه به‌کارگیری 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 ۳ نسل تقسیم‌بندی می‌گردند، نسل‌های اولیه احتمالاً از لحاظ راندمان و قدرت عملکردی، ضعیف‌تر می‌باشند، به‌طوری‌که هر نسل نسبت به نسل‌های قبل بازدهی بالاتری دارد (Maguire، ۲۰۰۲). هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات به‌کارگیری 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 ۱۷بتا استرادیول و ۱۷آلفا هیدروکسی‌پروژسترون 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 ۱۱۷ نمونه پیش‌مولد ماهی سفید ماده از روخانه شیرود به‌وسیله تورهای پرتابی (ماشک) صید شدند. سپس به حوضچه‌های ونیرو واقع در سالن تکثیر مشرف به رودخانه شیرود منتقل و نگه‌داری شدند تا سازگاری با محیط جدید به‌منظور 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 ۱۳۹۳ آغاز گردید. میانگین دمای آب در طول دوره تکثیر در این ماه ۱۰/۲±۰/۳ درجه سانتی‌گراد بود. ابتدا ماهیان با استفاده از پلاک‌هایی، تگ‌گذاری شدند. تگ‌های علامت‌گذاری به بالهٔ‌پشتی ماهیان متصل گردیده و به‌دنبال تگ‌گذاری با استفاده از ترازوی دیجیتال ماهیان

وزن‌کشی شدند تا میزان دقیق تزریق هر ترکیب به هر ماهی با وزن مخصوص خود، مشخص گردد.

پس از آماده‌سازی محلول‌های تزریقی، عملیات تزریق به‌صورت داخل عضلانی به عضلات پشتی مربوط به باله پشتی انجام گردید (Schreck، ۱۹۷۳). قبل از انجام عملیات تزریق خونگیری اولیه (ساعت صفر) از ماهیان به‌عمل آمد. خونگیری ثانویه نیز در ساعت ۱۲ پس از تزریق صورت پذیرفت. خونگیری با استفاده از سرنگ‌های ۲ و با وارد کردن سر سوزن آن از ناحیهٔ 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 دربدار وارد گردیده سپس لوله‌ها شماره‌گذاری شده و جهت سنجش هورمون‌های ۱۷β-estradiol و ۱۷α-hydroxyprogeterone، 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 ۴۰۰۰ دور در ثانیه به‌مدت ۳۰-۲۰ دقیقه تنظیم گردیدند، سپس سرم به‌طور کامل از گلبول‌ها جدا شده و سرم‌های به‌دست‌آمده در لوله‌های جداگانه‌ای به‌نام میکروتیوب قرار داده‌شدند. هورمون E_2 توسط کیت Fish ۱۷β-estradiol (E_2) ELISA Kit و هورمون ۱۷α-OHP توسط کیت Fish ۱۷α-hydroxyprogesterone (۱۷α-OHP) ELISA Kit سنجش گردیدند، این کیت‌ها از کمپانی Monobind Inc. Co. USA خریداری شدند. سنجش موارد فوق توسط دستگاه Biotech ELISA (USA) ۸۳۰ صورت پذیرفت (Munro و Lasley، ۱۹۸۸). براساس جداول ۱ و ۲ گروه‌بندی ترکیبات در تیمارهای ۱۰گانه به همراه گروه‌های شاهد و مرجع صورت پذیرفت. داده‌ها به‌صورت میانگین± 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) استفاده گردید. پس از تعیین معنی‌داری اختلافات، از آزمون‌ها یا تست‌های تکمیلی به نام تست تعقیبی توکی Post Hoc Tukey's HSD در سطح اطمینان ۹۵٪، استفاده گردید.

جدول ۱: گروه‌های تیماری ترکیبی به همراه دوز تزریقی، وزن و تعداد نمونه‌ها، هر تیمار دارای ۳ تکرار می‌باشد (میانگین±خطای استاندارد)

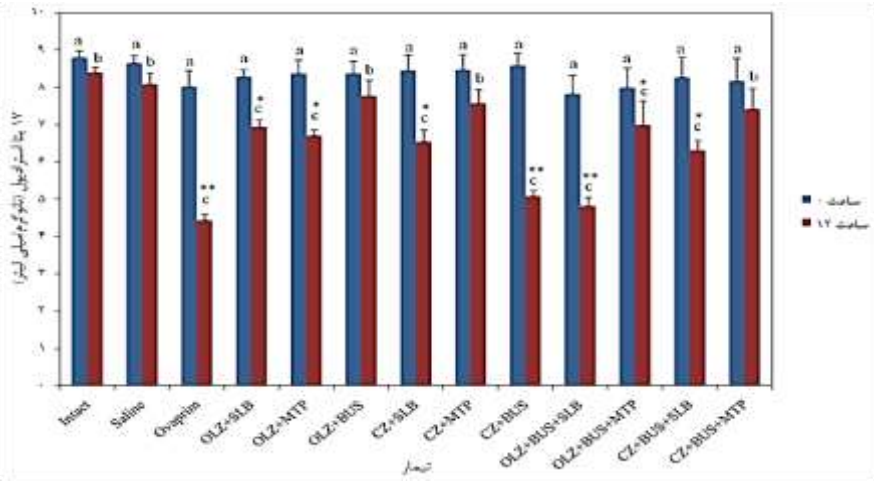
گروه تیماری	محلول تزریقی	دوز تزریقی (میلی‌گرم/میکروگرم)	وزن بدن (گرم)	تعداد نمونه
۱	OLZ+SLB	۵+۴	۹۹۷/۷±۱۱۹/۷	۹
۲	OLZ+MTP	۵+۵	۱۴۰۵/۶±۱۶۵/۵	۹
۳	OLZ+BUS	۵+۵	۱۱۶۰±۶۱/۰۱	۹
۴	CZ+SLB	۱۲+۴	۱۰۷۸/۹±۸۷/۶	۹
۵	CZ+MTP	۱۲+۵	۱۱۱۸/۹±۹۴/۵	۹
۶	CZ+BUS	۱۲+۵	۹۶۲/۲±۱۳۷/۹	۹
۷	OLZ+BUS+SLB	۵+۵+۴	۱۱۵۴/۴±۱۰۱/۷	۹
۸	OLZ+BUS+MTP	۵+۵+۵	۱۲۰۲/۲±۱۴۹/۸	۹
۹	CZ+BUS+SLB	۱۲+۵+۴	۱۳۶۳/۳±۱۶۱/۸	۹
۱۰	CZ+BUS+MTP	۱۲+۵+۵	۱۲۵۳/۳±۱۰۳/۸	۹

جدول ۲: گروه‌های تیماری ترکیب Ovaprim، گروه Intact و Normal Saline که به ترتیب مرجع، شاهد منفی و شاهد مثبت بودند، هر تیمار دارای ۳ تکرار می‌باشد (میانگین±خطای استاندارد)

شماره گروه تیماری	گروه تیماری	دوز تزریقی (میلی‌لیتر)	وزن بدن (گرم)	تعداد نمونه
۱	OVP	۰/۵	۱۳۴۱/۷± ۲۲۰/۴	۹
۲	Intact	ــــــ	۸۳۱/۱± ۸۴/۰۸	۹
۳	Normal Saline	٪۰/۷	۱۴۲۱/۱± ۱۸/۳۴	۹

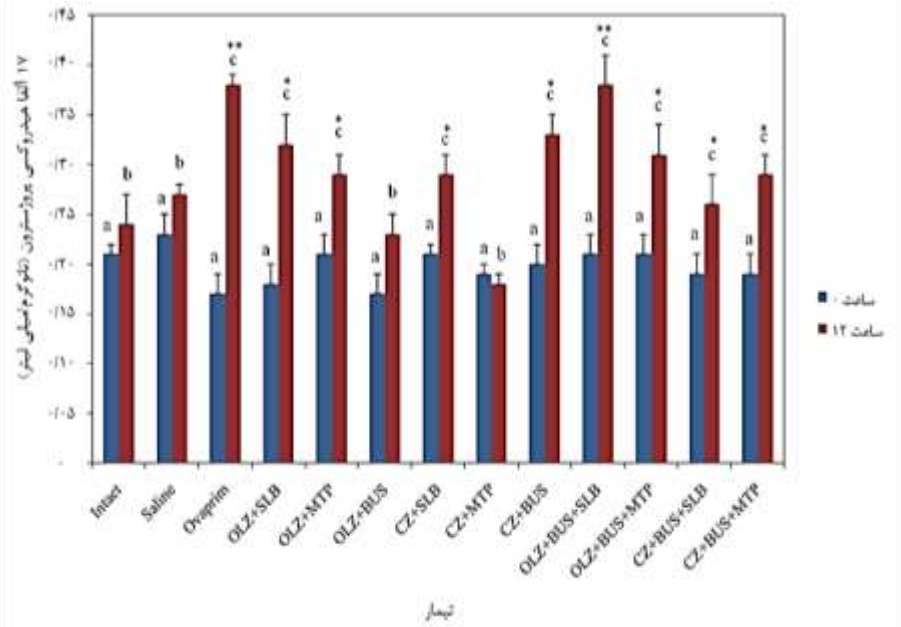
نتایج

در نتایج حاصل از هورمون E_2 در ساعات صفر تیمارها که قبل از هرگونه القائی بود، سطح E_2 بالا بود که بین مقدار ۸ تا ۹ نانوگرم در تیمارهای مختلف متغیر بود، بین تیمارها در ساعت صفر مربوط به‌مقدار E_2 هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). در ساعت ۱۲ پس از تزریق کم‌ترین سطح E_2 متعلق به تیمار Ovaprim ۰/۳۸ (نانوگرم/میلی‌لیتر) بود. بیش‌ترین سطح هورمون نیز مربوط به گروه شاهد منفی (بدون تزریق) بود که در واقع بین ساعت صفر و ۱۲ در گروه شاهد منفی هیچ‌گونه تفاوتی مشاهده نشد. بین تیمارهای Ovaprim، OLZ+BUS+SLB و CZ+BUS هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری به‌لحاظ سطح هورمون در ساعت ۱۲ وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). این سه تیمار در مقایسه با سایر تیمارها در سطح هورمون E_2 مربوط به ساعت ۱۲، دارای اختلاف معنی‌دار بودند ($p<۰/۰۱$) (شکل ۱).



شکل ۱: مقایسه ساعات صفر و ۱۲ از هورمون استرادیول در تمامی تیمارها (میانگین±خطای استاندارد)

حروف *c در p<۰/۰۵ و **c در p<۰/۰۱ دارای اختلاف معنی‌دار هستند.



شکل ۲: مقایسه ساعات صفر و ۱۲ مربوط به هورمون α-OHP۱۷ در تمامی تیمارها (میانگین±خطای استاندارد)

حروف *c در p<۰/۰۵ و **c در p<۰/۰۱ دارای اختلاف معنی دار هستند.

در نتایج حاصل از هورمون α-OHP۱۷، در ساعات صفر تمامی تیمارها، سطح هورمون در رنج پایین بین محدوده ۰/۱۷ تا ۰/۲۳ نانوگرم قرارداشت. در ساعات ۱۲ 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 شاهد منفی، CZ+MTP و OLZ+BUS بود. ساعت صفر تمامی تیمارها بدون اختلاف معنی‌دار بود (p>۰/۰۵)، درحالی‌که در ساعت ۱۲ تیمارها، Ovaprim، OLZ+BUS+SLB، OLZ+SLB و CZ+BUS با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشتند (p<۰/۰۱). تفاوت معنی‌داری نیز بین تیمارهای Intact، OLZ+SLB و CZ+MTP مشاهده نشد (p>۰/۰۵) (شکل ۲).

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 به‌همراه

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 درحالی‌که پس از القاء ترکیبات سطح آن کاهش پیدا کرده است. Hobby و Pankhurst نیز (۱۹۹۷) نشان دادند که سطح E_2 تخمدان، الگوی مناسبی از تغییرات چرخشی را نشان داده‌است که متناسب با تغییرات مراحل مختلف گنادی بود.

سطح E_2 در شروع بلوغ، در بیش‌ترین میزان در ماهیان ویتلوژنیک قرارداشت، درحالی‌که طی تکمیل رسیدگی نهایی اووسیت (FOM)، میزان آن کاهش پیدا نمود. 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، ۲۰۰۲).

در پژوهش حاضر، کم‌ترین سطح E_2 در ساعت ۱۲ 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 به‌صورت معنی‌داری متفاوت بوده‌است، زیرا اووسیت به سمت تولید ترکیبات و هورمون‌های حد واسط رسیدگی که در زمان تخمک‌گذاری و در نزدیکی تخم‌ریزی تولید می‌شوند، حرکت می‌کند. بنابراین نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهند که کیت هورمونی اواپریم به همراه آنالوگ GnRH از یک طرف و آنتاگونیست‌های نسل سوم دوپامین (کلوزاپین و اولانزاپین) به‌همراه 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 آبگیری 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 (Yu و Peter، ۱۹۹۲). 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، ۲۰۰۲). در بررسی حاضر، بیش‌ترین سطح هورمون E_2 در تیمارهای Intact، Saline، OLZ+BUS، CZ+MTP 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 به‌عنوان یک آنتاگونیست رسپتور بتا آدرنرژیک دارای اثر مهاری بر اووسیت و تخمدان ماهی سفید بوده است بنابراین در ترکیب با سایر داروها اثرات تحریکی آن‌ها را مهار نموده‌است و اجازه کاهش سطح هورمون استرادیول و پیش‌روی اووسیت به سمت رسیدگی نهایی و تخمک‌گذاری را نداده است. در پژوهشی دیگر نیز مشخص گردید، ترکیب بروموکریپتین (آنتاگونیست دوپامین) به‌طور چشمگیری باعث کاهش آزادسازی sGnRH که القاءکننده آزادسازی LH است، می‌گردد که به‌دنبال تیمار ۱۷α۲۰βP رخ داده‌است. ۱۷α۲۰βP به‌طور 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 به‌طور هم‌زمان استفاده شد، مهار نمود (Vacher و همکاران ۲۰۰۲). Chaube و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که بین E_2 و سیستم کاتکول‌آمینرژیک برهم کنشی وجود دارد. سطح هورمون ۱۷α-OHP در پژوهش حاضر در زمان قبل از تزریق (ساعت صفر) بدون هیچ‌گونه اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها پایین بوده به‌طوری‌که اووسیت‌ها به مراحل پایانی رسیدگی و تخمک گذاری (ساعت ۱۲) که نزدیک شدند، سطح این هورمون افزایش یافته‌است، ۱۷α-OHP پیش‌ساز هورمون‌های حد واسط بلوغ و رسیدگی است که در زمان زرده‌سازی کاهش‌یافته ولی در زمان رسیدگی نهایی مجدداً اثر افزایشی دارد. Miwa و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که غلظت ۱۷α-OHP در مقابل غلظت T و E_2، در مرحله ۳ در سطح بالایی قرار داشت. تا زمانی‌که تبدیل به هورمون‌های ایجادکننده بلوغ و رسیدگی نهایی اووسیت (DHP) گردید. این رخدادها در ارتباط با رسیدگی نهایی اووسیت شامل مهاجرت هسته ژرمینال، شکسته‌شدن غشاء هسته، شروع مجدد تقسیم میوز، آبگیری اووسیت و تخم‌ریزی هستند. به‌علاوه میزان بالای غلظت ۱۷α-OHP در ماهیان مربوط به ماده‌هایی بود که رسیدگی نهایی اووسیت و تخم‌ریزی داشتند. در بررسی Ünal و همکاران (۲۰۰۸)، مشخص گردید که سطح ۱۱-deoxycortisol (۱۱-DOC) و به‌دنبال آن ۲۰β-S و ۱۷α-OHP در بالاترین سطح خود در آغاز رسیدگی قرار داشتند. بررسی‌ها نشان دادند که ۱۱-DOC، ۱۷،۲۰βP و ۲۰β-S در رسیدگی اووسیت مؤثر واقع شدند، اما ۱۱-DOC به‌عنوان مؤثرترین هورمون عمل نمود. تیمارهای Ovaprim، OLZ+BUS+SLB، CZ+BUS و OLZ+SLB در پژوهش حاضر، دارای سطح بالایی از هورمون ۱۷α-OHP در ساعت ۱۲ 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 تخمک‌گذاری و رسیدگی نهایی اووسیت تسریع شده و منجر به تخم‌ریزی موفق گردیده است. این هورمون معکوس استرادیول عمل نموده‌است و چون از یک طرف به‌عنوان 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 تخمک‌گذاری و رسیدگی نهایی اووسیت اثر افزایشی مجدد پیدا می‌کند.

بنابراین بهترین کیت ترکیبی در افزایش راندمان رسیدگی نهایی اووسیت و تخمک‌گذاری به جهت کاهش هرچه بیش‌تر هورمون استرادیول و افزایش هورمون هیدروکسی پروژسترون در ساعت ۱۲ پس از تزریق در ماهی سفید، به‌کارگیری یک آنتاگونیست قوی نسل سوم مانند اولانزاپین به‌همراه GnRHa (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 به‌طور قاطع یک محرک مناسب جهت افزایش راندمان تکثیر و هزینه مناسب نیز می‌باشد، طوری‌که 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 آنتاگونیست‌های نسل سوم دوپامین در مقایسه با نسل اول و دوم، به‌طور قطع پذیرفته می‌گردد، به‌همین خاطر می‌توان از آنتاگونیست‌های نسل سوم در جهت تسریع رسیدگی نهایی اووسیت و تخمک‌گذاری در ماهی سفید استفاده نمود.

منابع

۱. **Ahmadnezhad, M.; Oryan, Sh.; Hosseinzadeh Sahafi, H.; Khara, H. and Sattari, M., ۲۰۱۲.** Effects of LHRH-A۲ and Chlorpromazine (dopemine antagonist) on inducing spawning in Caspian Kutum from the southwest of Caspian Sea. Caspian Journal of Environmental Sciences. Vol. ۱۰, pp: ۳۳-۴۲.

۲. **Chaube, R.; Singh, R.K. and Joy, K.P., ۲۰۱۲.** Estrogen regulation of brain vasotocin secretion in the catfish Heteropneustes fossilis: an interaction with catecholaminergic system. General and Comparative Endocrinology. Vol. ۱۷۵, pp: ۲۰۶-۲۱۳.

۳. **Falahatkar, B.; Poursaeid, S.; Langroudi, H.E.; Efatpanah, I.; Meknatkhah, B. and Rahmati, M., ۲۰۱۳.** Spawning induction in kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii) with different hormones: analysis of hormone profiles and induce spawning success. Archives of Polish Fisheries. Vol. ۲۱, pp: ۲۷۱-۲۸۱.

۴. **Heyrati, F.P.; Mostafavi, H.; Toloee, H. and Dorafshan, S., ۲۰۰۷.** Induced spawning of kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, ۱۹۰۱) using (D-Ala۶, Pro۹-NEt) GnRHa combined with domperidone. Aquaculture. Vol. ۲۶۵, pp: ۲۸۸-۹۳.

۵. **Hobby, A.C. and Pankhurst, N.W., ۱۹۹۷.** The relationship between plasma and ovarian levels of gonodal steroids in the repeat spawning marine fishes *Pagrus major* (sparidae) and *Chromis dispilus* (Pomacentridae). Fish Physiology and Biochemistry. Vol. ۱۶, No. ۱. pp: ۶۵-۷۵.

۶. **Kobayashi, M.; Amano, M.; Kim, M.H.; Yoshiura, Y.; Sohn, Y.C.; Suetake, H. and Aida, K., ۱۹۹۷.** Gonadotropin releasing hormone and gonadotropin in goldfish and masu salmon, Fish physiology and Biochemistry. Vol. ۱۷, pp: ۱-۸.

۷. **Kobayashi, M.; Sorensen, P.W. and Stacey, N.E., ۲۰۰۲.** Hormonal and pheromonal control of spawning behavior in goldfish. Fish physiology and Biochemistry. Vol. ۲۶, pp: ۷۱-۸۴.

۸. **Maguire, G.A., ۲۰۰۲.** Prolactin elevation with antipsychotic medications: mechanisms of action and clinical consequences. Journal of Clinical Psychiatry. Vol. ۶۳, pp: ۵۶-۶۲.

۹. **Miwa, T.; Yoshizaki, G.; Naka, H.; Nakatani, M.; Sakai, K.; Kobayashi, M. and Takeuchi. T., ۲۰۰۱.** Ovarian steroid synthesis during oocyte maturation and ovulation in Japanese catfish (*Silurus asotus*). Aquaculture. Vol. ۱۹۸, pp: ۱۷۹-۱۹۱.

۱۰. **Munro, C. and Lasley, B., ۱۹۸۸.** Non-radiometric methods for immunoassay of steroid hormones. Progress in Clinical and Biological Research. Vol. ۲۸۵, pp: ۲۸۹-۳۲۹.

۱۱. **Peter, R.E. and Yu, K.L., ۱۹۹۷.** Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects, Reviews in Fish Biology and Fisheries. Vol. ۷, pp: ۱۷۳-۱۹۷.

۱۲. **Schreck, C.B., ۱۹۷۳.** Uptake of ۳H-testosterone and influence of an antiandrogen in tissues of rainbow trout *Salmo gairdneri*. General and Comparative Endocrinology. Vol. ۲۱,pp: ۶۰-۶۸.

۱۳. **Siawrys, G.; Bogacka, I.; Okrasa, S.; Kaminski, T. and Przala, J., ۲۰۰۲.** 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. ۶۹, pp: ۷۳-۸۹.

۱۴. **Stacey, N.E. and Sorensen, P.W., ۲۰۰۲.** Fish hormonal pheromones. In: Pfaff, D.W., Arnold, A.P., Etgen, A., Fahrbach, S., Rubin, R. (Eds.). Hormones, Brain and Behavior. Vol. ۲, pp: ۳۷۵-۴۳۵.

۱۵. **Ünal, G.; Erdogan, E.; Oguz, A.; Kaptaner, R.B.; Kankaya, E. and Elp, M., ۲۰۰۸.** Determination of hormones inducing oocyte maturation in Chalcalburnus tarichi (Pallas, ۱۸۱۱). Fish physiology and Biochemistry. Vol. ۳۴, pp: ۴۴۷-۴۵۴.

۱۶. **Vacher, C.; Ferri`ere, F.; Marmignon, M. H.; Pellegrini, E. and Saligaut, C., ۲۰۰۲.** DopamineD۲ receptors and secretion of FSH and LH: role of sexual steroids on the pituitary of the female rainbow trout. General and Comparative Endocrinology. Vol. ۱۲۷, pp: ۱۹۸-۲۰۶.

۱۷. **Yu, K.L. and Peter, R.E., ۱۹۹۲.** Adrenergic and dopaminergic regulation of gonadotropin-releasing hormone release from goldfish preopticanterior hypothalamus and pituitary in vitro. General and Comparative Endocrinology. Vol. ۸۵, No. ۱, pp: ۱۳۸-۱۴۶.

۱۸. **Yu, K.L.; Lin, X.W.; da Cunha Bastos, J. and Peter, R.E., ۱۹۹۷.** Neural regulation of GnRH in teleost fish. In: Parhar, I.S. and Sakuma, Y. (eds.), GnRH Neurons: Gene to Behavior. Brain Shuppan, Tokyo. pp: ۲۷۷-۳۱۲.

۱۹. **Zohar, Y.; Elizur, A.; Sherwood, N.M.; Powell, J.F.F.; Rivier, J.E. and Zmora, N., ۱۹۹۵.** Gonadotropin-releasing activities of the three native forms of gonadotropin-releasing hormone present in the brain of gilthead seabream, *Sparus aurata*. General and Comparative Endocrinology. Vol. ۹۷, pp: ۲۸۹-۲۹۹.