

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

- سارا کوهی‌لای*: گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۷۷۵-۱۴۵۱۵
- شهربانو عریان: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه خوارزمی، تهران
- همایون حسین‌زاده صحافی: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، صندوق پستی: ۶۱۱۶-۱۴۱۵۵
- پرگل قوام مصطفوی: گروه زیست شناسی دریا، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران، صندوق پستی: ۷۷۵-۱۴۵۱۵
- صفیه بهزادی: گروه روانشناسی بالینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن، رودهن تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۵

چکیده

ماهی سفید *Rutilus frisii kutum* یکی از گونه‌های ارزشمند تجاری و بومی دریای خزر است. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات به کارگیری 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. ۱۱۷ ماهی سفید پیش‌مولد ماده برای انجام این تحقیق انتخاب شدند. ترکیبات در دوزهای مورد نظر شامل: Salbutamol Sulphate (SLB) دوز ۴ میلی‌گرم، Olanzapine (OLZ) دوز ۵ میلی‌گرم، Clozapine (CZ) دوز ۱۲ میلی‌گرم، Metoprolol Tartrate (MTP) دوز ۵ میلی‌گرم، Buserelin Acetate (BUS) دوز ۵ میکروگرم و Ovaprim دوز ۵/۰ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، بودند. ترکیبات مذکور در قالب ۱۰ تیمار ترکیبی از هورمون و داروها، تقسیم‌بندی شدند: گروه ۱ (OLZ+SLB)، گروه ۲ (OLZ+MTP)، گروه ۳ (OLZ+BUS)، گروه ۴ (CZ+SLB)، گروه ۵ (CZ+MTP)، گروه ۶ (CZ+BUS)، گروه ۷ (OLZ+BUS+SLB)، گروه ۸ (OLZ+BUS+MTP)، گروه ۹ (OLZ+BUS+SLB+CZ)، گروه ۱۰ (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 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+MTP، OLZ+SLB، 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 اوسیت‌ها به مراحل پایانی رسیدگی و تخمک‌گذاری که نزدیک شدند، سطح این هورمون افزایش یافت (ساعت ۱۲). تیمارهای Ovaprim، OLZ+BUS+SLB، CZ+BUS، OLZ+SLB و CZ+BUS 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 به همراه آگونیست‌های آدرنرژیک و GnRHa در ماهی سفید بسیار مؤثر عمل نموده‌اند.

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

مقدمه

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 به طول می‌انجامد، آزاد می‌گردد (Kobayashi و همکاران، ۲۰۰۲؛ Stacey و Sorensen، ۲۰۰۲). 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 به وسیلهٔ رسپتورهای دوپامین (D_2 -like) مشابه آن‌چه در پستانداران وجود دارد، انجام می‌دهد.

امروزه به کارگیری 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، به طوری که هر نسل نسبت به نسل‌های قبل بازدهی بالاتری دارد (Maguire، ۲۰۰۲). هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات به کارگیری 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 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 ۱۱۷ نمونه پیش‌مولد ماهی سفید ماده از روخانه شیروود به وسیله تورهای پرتابی (ماشک) صید شدند. سپس به 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 ۱۳۹۳ آغاز گردید. میانگین دمای آب در طول دوره تکثیر در این ماه 10.7 ± 0.3 درجه سانتی‌گراد بود. ابتدا ماهیان با استفاده از پلاک‌هایی، تگ‌گذاری شدند. تگ‌های علامت‌گذاری به باله‌پشتی ماهیان متصل گردیده و به دنبال تگ‌گذاری با استفاده از ترازوی دیجیتال ماهیان

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 به عمل آمده توسط Ahmadnezhad و همکاران (۲۰۰۸)، از LHRHa به همراه آنتاگونیست‌های دوپامین مانند پیموزاید و کلرپرومازین در تکثیر مصنوعی گونه مذکور استفاده گردید، به طوری که 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 GnRH ۲۰ میکروگرم و دامپریدون ۱۰ میلی‌گرم به راندمان ۱۰٪ 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 به صرفه در جهت افزایش بازدهی تکثیر و پرورش آن، موفقیت بزرگی در این مورد به دست خواهد آمد.

تولیدمثل یک پدیدهٔ اساسی فیزیولوژیک است که به وسیلهٔ 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 به خصوص نمونه‌های آب شیرین، دوپامین دارای اثر مهارتی بر آزادسازی گنادوتروپین هیپوفیز می‌باشد (Peter و Yu، ۱۹۹۷). در تمام گونه‌ها GnRH، آزادکننده قوی گنادوتروپین است (Zohar و همکاران،

۳۰-۲۰ دقیقه تنظیم گردیدند، سپس سرم به طور کامل از گلوبول‌ها جدا شده و سرم‌های به دست آمده در لوله‌های جداگانه‌ای به نام میکروتیوب قرار داده شدند. هورمون E_2 توسط کیت Fish- 17β ELISA Kit (E₂) estradiol و هورمون 17α -OHP توسط کیت Fish- 17α -hydroxyprogesterone (17 α -OHP) ELISA Kit سنجش گردیدند، این کیت‌ها از کمپانی Monobind Inc. Co. USA خریداری شدند. سنجش موارد فوق توسط دستگاه Biotech ELISA (USA) صورت پذیرفت (Munro و Lasley، ۱۹۸۸). براساس جداول ۱ و ۲ گروه‌بندی ترکیبات در تیمارهای ۱۰ 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 (یک طرفه)، (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 ۰/۹۵، استفاده گردید.

وزن کشتی 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، ۱۹۷۳). قبل از انجام عملیات تزریق خونگیری اولیه (ساعت صفر) از ماهیان به عمل 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 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 هیپارین آغشته گردید، پس از خونگیری بلافاصله محتویات داخل سرنگ به داخل لوله‌های آزمایشگاهی دربار وارد گردیده سپس لوله‌ها شماره‌گذاری شده و جهت سنجش هورمون‌های 17β -estradiol و 17α -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 ۴۰۰۰ دور در ثانیه به مدت

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

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

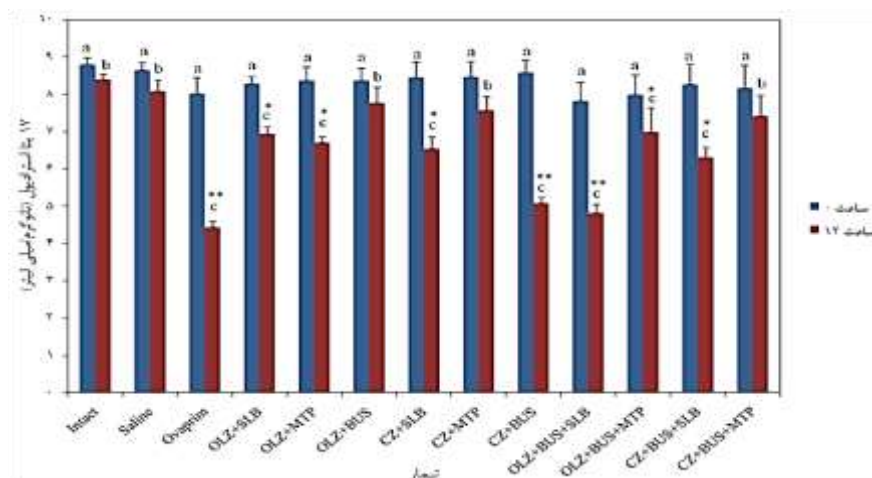
| شماره گروه تیماری | گروه تیماری | دوز تزریقی (میلی‌لیتر) | وزن بدن (گرم) | تعداد نمونه |
|-------------------|---------------|------------------------|--------------------|-------------|
| ۱ | OVP | ۰/۵ | ۱۳۴۱/۷ \pm ۲۲۰/۴ | ۹ |
| ۲ | Intact | | ۸۳۱/۱ \pm ۸۴/۰۸ | ۹ |
| ۳ | Normal Saline | ۰/۰۷ | ۱۴۲۱/۱ \pm ۱۸/۳۴ | ۹ |

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 به لحاظ سطح هورمون در ساعت ۱۲ وجود نداشت ($p > 0/05$). این سه تیمار در مقایسه با سایر تیمارها در سطح هورمون E_2 مربوط به ساعت ۱۲، دارای اختلاف معنی‌دار بودند ($p < 0/01$) (شکل ۱).

نتایج

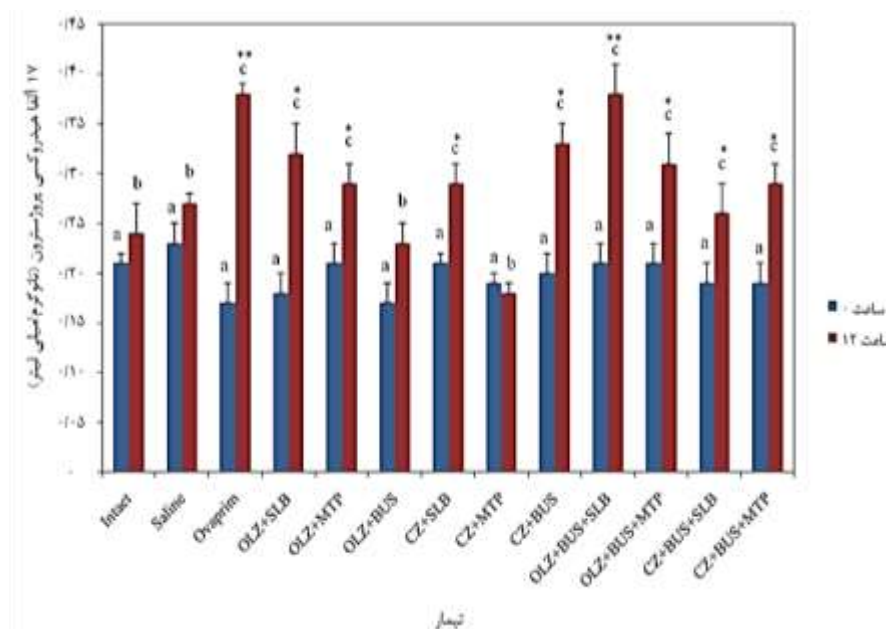
در نتایج حاصل از هورمون E_2 در ساعات صفر تیمارها که قبل از هرگونه القائی بود، سطح E_2 بالا بود که بین مقدار ۸ تا ۹ نانوگرم در تیمارهای مختلف متغیر بود، بین تیمارها در ساعت صفر مربوط به مقدار E_2 هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0/05$). در ساعت ۱۲ پس از تزریق کم‌ترین سطح E_2 متعلق به تیمار Ovaprim





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

حروف c* در $p < 0.05$ و c** در $p < 0.01$ دارای اختلاف معنی‌دار هستند.



شکل ۲: مقایسه ساعات صفر و ۱۲ 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.

معنی‌داری نیز بین تیمارهای Intact، OLZ+SLB و CZ+MTP مشاهده نشد ($p > 0.05$) (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

در نتایج حاصل از هورمون 17α -OHP، 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. ساعات صفر تمامی تیمارها بدون اختلاف معنی‌دار بود ($p > 0.05$)، درحالی‌که در ساعات ۱۲ تیمارها، Ovaprim، OLZ+BUS+SLB، OLZ+SLB و CZ+BUS با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشتند ($p < 0.01$). تفاوت

دارای اثر مهاری 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 تخمک گذاری را نداده است. در پژوهشی دیگر نیز مشخص گردید، ترکیب بروموکریپتین (آنتاگونیست دوپامین) به طور چشمگیری باعث کاهش آزادسازی sGnRH که القاء کننده آزادسازی LH است، می گردد 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 ۲۰۰۲). Chaube و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که بین E_2 و سیستم کاتکول آمینرژیک برهم کنشی وجود دارد. سطح هورمون 17α -OHP در پژوهش حاضر در زمان قبل از تزریق (ساعت صفر) بدون هیچ گونه اختلاف معنی دار آماری بین تیمارها پایین بوده به طوری که اووسیتها به مراحل پایانی رسیدگی و تخمک گذاری (ساعت ۱۲) که نزدیک شدند، سطح این هورمون افزایش یافته است، 17α -OHP پیش ساز هورمونهای حد واسط بلوغ و رسیدگی است که در زمان زرده سازی کاهش یافته ولی در زمان رسیدگی نهایی مجدداً اثر افزایشی دارد. Miwa و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که غلظت 17α -OHP در مقابل غلظت T و E_2 در مرحله ۳ 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 ژرمینال، شکسته شدن غشاء هسته، شروع مجدد تقسیم میوز، آگیری اووسیت و تخم ریزی هستند. به علاوه میزان بالای غلظت 17α -OHP در ماهیان مربوط به مادههایی بود که رسیدگی نهایی اووسیت و تخم ریزی داشتند. در بررسی Unal و همکاران (۲۰۰۸)، مشخص گردید که سطح 11 -deoxycortisol و $(11$ -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 در $17\alpha 20\beta P$ و 20β -S در رسیدگی اووسیت مؤثر واقع شدند، اما 11 -DOC به عنوان مؤثرترین هورمون عمل نمود. تیمارهای Ovaprim، $OLZ+BUS+SLB$ ، $OLZ+BUS$ و $CZ+BUS$ در پژوهش حاضر، دارای سطح بالایی از هورمون 17α -OHP در ساعت ۱۲ پس از تزریق بودند و با سایر تیمارها اختلاف معنی دار داشتند. بین ساعات صفر تمامی تیمارها، تفاوت معنی داری وجود نداشت. با افزایش سطح هورمون مذکور تخمک گذاری و رسیدگی نهایی اووسیت تسریع شده و منجر به تخم ریزی موفق گردیده است. این هورمون معکوس استرادیول عمل نموده است و چون از یک طرف به عنوان پیش ساز

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 هیچ گونه اختلاف معنی دار بین تیمارها، بالا بوده در حالی که پس از القاء ترکیبات سطح آن کاهش پیدا کرده است. Pankhurst و Hobby نیز (۱۹۹۷) 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 ویتلوزنیک قرار داشت، در حالی که 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 به صورت معنی داری متفاوت بوده است، زیرا اووسیت به سمت تولید ترکیبات و هورمونهای حد واسط رسیدگی که در زمان تخمک گذاری و در نزدیکی تخم ریزی تولید می شوند، حرکت می کند. بنابراین نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می دهند 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 می دهد که استرادیول با توجه به تأثیر اصلی در پدیده زرده سازی 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، ۱۹۹۲). در طی تحقیق دیگری نیز مشخص گردید که استروئیدهای جنسی، آزادسازی گنادوتروپینها را در مادههای قزل آلائی رنگین کمان تا اندازه ای از طریق تعدیل رسپتورهای D_2 دوپامین، تسهیل می نماید (Vacher و همکاران، ۲۰۰۲). در بررسی حاضر، بیشترین سطح هورمون E_2 در تیمارهای $Saline$ ، $Intact$ ، $OLZ+BUS$ ، $CZ+MTP$ ، $OLZ+BUS+MTP$ و $CZ+BUS$ مشاهده گردید. بین تیمارهای مذکور تفاوت معنی داری وجود نداشت که نشان دهنده تأثیر اندک تیمارهای فوق بر سطح هورمون استرادیول بوده است. در پژوهش حاضر هم چنین مشخص گردید ترکیب متوپرولول به عنوان یک آنتاگونیست رسپتور بتا آدرنرژیک



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: ۱۷۲-۱۹۷.
۱۲. Schreck, C.B., ۱۹۷۳. Uptake of 3 H-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.; Ferrière, F.; Marmignon, M. H.; Pellegrini, E. and Saligaut, C., ۲۰۰۲. Dopamine D_2 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 preoptic anterior 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.

برای آندرواستندین 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 ۱۲ پس از تزریق در ماهی سفید، به کارگیری یک آنتاگونیست قوی نسل سوم مانند اولانزپاین به همراه GnRHa (بوسرلین) و آگونیست سیستم آدرنژیک 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، 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 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 تخم‌گذاری در ماهی سفید استفاده نمود.

منابع

۱. Ahmadnezhad, M.; Oryan, Sh.; Hosseinzadeh Sahafi, H.; Khara, H. and Sattari, M., ۲۰۱۲. Effects of LHRH-A $_1$ and Chlorpromazine (dopamine 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: ۲۰۶-۲۱۲.
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.; Toloei, H. and Dorafshan, S., ۲۰۰۷. Induced spawning of kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, ۱۹۰۱) using (D-Ala 6 , Pro 9 -NEt) GnRHa combined with domperidone. *Aquaculture*. Vol. ۲۶۵, pp: ۲۸۸-۲۹۳.
۵. Hobby, A.C. and Pankhurst, N.W., ۱۹۹۷. 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. ۱۶, No. ۱. pp: ۶۵-۷۵.