

# بررسی سطح گنادوتروپین نوع دوم در سرم خون ماهی سیم ماده *Abramis brama orientalis* (Berg, 1905) پس از تزریق LHRHa<sub>2</sub> و آنتاگونیست های دوپامین

سارا کوهی لای<sup>۱\*</sup>، شهریانو عریان<sup>۲</sup>، همایون حسین زاده صحافی<sup>۳</sup>

(۱) گروه بیولوژی دریا واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران - ایران.  
(۲) گروه زیست شناسی دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران، تهران - ایران.  
(۳) مؤسسه تحقیقات شیلات، تهران - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۹ اسفند ماه ۱۳۸۷، پذیرش نهایی: ۲۸ تیر ماه ۱۳۸۸)

## چکیده

LHRHa سنتتیک به عنوان یک آنالوگ فوق فعال جهت تحریک آزادسازی GTH در گونه های مختلف ماهیان استخوانی استفاده می شود و این نشان از یک همپوشانی در فعالیت بیولوژیکی LHRH و GnRH دارد. در پژوهش حاضر هورمون LHRHa<sub>2</sub> (Hormone Analogue) LHRHa<sub>2</sub> (۳ μg/kg) (Luteinizing Hormone Releasing Hormone Analogue) به همراه آنتاگونیست های دوپامین (متوکلوپرامید ۵ mg/kg) و کلرپرومازین (۱۰ mg/kg) به ۶۴ قطعه هادی سیم ماده (۰/۷۱۳۷۱±۰/۰۲۶ kg, BW) تزریق شدند. تیمارهای موجود شامل کنترل مثبت (تزریق سالین)، متوکلوپرامید ۴ mg/kg، کلرپرومازین ۱۰ mg/kg، LHRHa<sub>2</sub> ۳ μg/kg، متوکلوپرامید ۵ mg/kg + LHRHa<sub>2</sub> ۳ μg/kg، کلرپرومازین ۱۰ mg/kg + LHRHa<sub>2</sub> ۳ μg/kg، متوکلوپرامید ۵ mg/kg + LHRHa<sub>2</sub> ۳ μg/kg، کلرپرومازین ۱۰ mg/kg + LHRHa<sub>2</sub> ۳ μg/kg و کنترل منفی (گروه دست نخورده و بدون هیچ گونه تزریق که میزان سطح پایه ای GTH II در آن مشخص می شود) بودند. پس از آماده سازی ترکیبات مورد نظر، ماهیان طی مراحل خونگیری اولیه، تزریق و خونگیری ثانویه، مورد آزمایش قرار گرفتند و فاصله زمانی بین دو مرحله خونگیری ۵ ساعت در نظر گرفته شد. سپس سنجش GTH II به روش رادیوایمونوآسی انجام شد. نتایج نشان دادند که دو ترکیب فوق الذکر یعنی LHRHa<sub>2</sub> با دوز (۳ μg/kg) و آنتاگونیست دوپامین یعنی متوکلوپرامید با دوز (۵ mg/kg) به شکل معنی دار و مؤثری منجر به افزایش سطح GTH II گردیدند (p < ۰/۰۵)، در صورتیکه کلرپرومازین بعنوان دیگر آنتاگونیست دوپامین با دوز (۱۰ mg/kg) در اثر افزایشی خود اختلاف معنی داری ایجاد نکرد (p > ۰/۰۵) همچنین نتایج بالا در تیمارهای انفرادی با داروها در مقایسه با تیمارهای ترکیبی از داروها به صورت بسیار مؤثر و بارزتری قابل مشاهده بودند.

واژه های کلیدی: گنادوتروپین، LHRHa<sub>2</sub>، آنتاگونیست دوپامین، سیم *Abramis brama orientalis* (Berg, 1905).

نمودند (۷). بر روی گونه *Abramis brama L.* نیز تحقیقات متعددی در دنیا صورت گرفته است، مه یکی از بارزترین آن ها توسط Kucharczyk و همکاران در سال ۲۰۰۵ بود به طوری که تعیین گردید که آنالوگ GnRH (GnRH)، در حالت ترکیبی با آنتاگونیست دوپامین (Ovopel) به خوبی در گونه مذکور تحریک ایجاد می کند و مشخص گردید که در تخم ریزی موفق ماهی سیم استفاده از ترکیبات CPE و HCG، به همراه تغییرات درجه حرارت آب می تواند تأثیر گذار باشد در حالی که یک Ovopel محتوی GnRH به همراه ترکیب متوکلوپرامید در تخم ریزی بسیار مؤثرتر عمل می کند (۱۲). Glubokov و همکارانش نیز در سال ۱۹۹۱ اثر آنالوگ LHRH و آنتاگونیست های دوپامین در بلوغ جنسی ماهی سیم *Abramis brama* را بررسی کردند، بطوری که در استفاده از آنتاگونیست هایی مثل Metoclopramide و Eglonil در کنار LHRHa به این نتیجه رسیدند که اثرات Eglonil به مراتب خیلی کمتر از Metoclopramide بوده ولی موجب تحریک بلوغ در ماهیان ماده سیم می گردد (۸). Barth و همکاران در سال ۱۹۹۷ نتایج خوب القاء اوولاسیون در کپورماهیان، از طریق تحریک بوسیله یک آنالوگ سنتتیک از GnRH که اغلب

## مقدمه

ماهی سیم متعلق به خانواده کپورماهیان (Cyprinidae)، جنس آبرامیس (سیم) (*Abramis*)، گونه آبرامیس براما (*Abramis brama*) و زیر گونه (*Abramis brama orientalis*)، می باشد و به طور عمده در گستره های تالاب انزلی و رودخانه های ورودی و خروجی آن و در رودخانه سفیدرود از مصب تا سد سنگر مشاهده میشود (۱). 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 به طوری 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 می توان به عصاره هیپوفیز، GnRH و LHRHa اشاره نمود، به نحوی که قناعت پرست در سال ۱۳۷۲ با بررسی روش های مختلف تکثیر ماهی سیم از ترکیباتی چون LHRH-A و CPE در تکثیر مصنوعی آن استفاده کرده و تخم ریزی را در ماهی سیم القاء



جدول ۱- گروه‌های تیماری به همراه تعداد نمونه و میانگین وزنی آن‌ها - گروه تیماری ۱ به عنوان کنترل مثبت (تزریق سالین) و گروه تیماری ۸ به عنوان کنترل منفی (گروه دست نخورده و بدون هیچ تزریق) در نظر گرفته شدند.

گروه تیماری	محلوز تزریقی	وزن بدن (BW,kg)	تعداد نمونه
۱	سالین	۰/۶۹±۰/۰۴	۸
۲	متوکلوپرامید (۵ mg/kg)	۰/۶۶±۰/۰۴	۸
۳	کلرپرومازین (۱۰ mg/kg)	۰/۶۹±۰/۰۳	۸
۴	LHRHa <sub>2</sub> (۳ μg/kg)	۰/۵۸±۰/۰۲	۸
۵	متوکلوپرامید+LHRHa <sub>2</sub>	۰/۸۰±۰/۰۳	۸
۶	کلرپرومازین+LHRHa <sub>2</sub>	۰/۷۱±۰/۰۲	۸
۷	متوکلوپرامید+کلرپرومازین+LHRHa <sub>2</sub>	۰/۸۱±۰/۰۱	۸
۸	-----	۰/۷۵±۰/۰۱	۸

سپس از ماهیان قبل از هر گونه تزریقی یک خونگیری اولیه به عمل آمد، بلافاصله تزریق به روش I.M انجام شده سپس ۵ ساعت بعد عمل خونگیری ثانویه انجام گردید (۱۴).

**سنجش هورمون GTH II:** لازم به ذکر است که میزان هورمون در خونگیری اولیه به صورت میانگینی از تمام تیمارها در این مرحله (مرحله اول خونگیری) در نظر گرفته شد، در ادامه جهت سنجش GTH II، نمونه‌های خون در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شدند و در سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه تنظیم گردیدند، نمونه‌ها توسط کیت هورمونی ایمونو تک (ساخت کشور فرانسه) مورد سنجش قرار گرفتند. سنجش نیز توسط روش رادیوایمونواسی و بوسیله دستگاه تمام اتوماتیک گاما کانتر LKB صورت گرفت (۶).

**تجزیه و تحلیل آماری:** در روشهای آماری جهت نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون K-S (Kolmogorov-Smirnov Test) استفاده گردید، همچنین برای بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار آماری بین هریک از تیمارها با تیمار کنترل مثبت و کنترل منفی از نظر میانگین میزان سنجش GTH II، از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA و تست تکمیلی دانکن در سطح معنی دار ۰/۰۵ استفاده گردید.

## نتایج

**تیمار متوکلوپرامید:** نتایج حاصله از مطالعات آماری بیانگر وجود اختلاف معنی دار آماری بین مقادیر GTH II سرم در تیمار مذکور با گروه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی بود ( $p < 0.05$ ).

**تیمار کلرپرومازین:** آنالیز آماری داده‌ها، تفاوت معنی دار آماری را بین مقادیر GTH II در تیمار مذکور با گروه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی نشان نداد ( $p > 0.05$ ).

**تیمار LHRHa<sub>2</sub>:** در این تجربه نتایج حاصل از مطالعات آماری نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی دار آماری از لحاظ مقادیر GTH II بین تیمار مذکور و کنترل مثبت و کنترل منفی بود ( $p < 0.05$ ).

**تیمار متوکلوپرامید+LHRHa<sub>2</sub>:** تزریق ترکیبی این دو ماده نیز بر اساس آنالیز آماری داده‌ها هیچگونه اختلاف معنی داری را از جهت سطح GTH II بین تیمار مذکور و کنترل مثبت و کنترل منفی نشان نداد ( $p > 0.05$ ).

با یک آنتاگونیست دوپامین همراه می‌باشد را تأیید نمودند (۳). Horvath و همکاران نیز در سال ۱۹۹۷ به یک تکنیک جدید در تحریک اوولاسیون کپورماهیان با استفاده از پلت محتوی GnRHa دست یافتند (۱۰). طبق مطالعات به عمل آمده میزان صید ماهی سیم در دهه ۱۳۸۰ نسبت به سال‌های ۱۳۰۶ لغایت ۱۳۱۲ کاهش چشمگیری را نشان داده و رهاکرد میلیونی این ماهی از سال ۱۳۶۹ تا سال ۱۳۷۹ بالغ بر ۹۹ میلیون عدد بوده که نتوانسته است ذخایر این ماهی را ترمیم نماید (۱۶)، افزایش صید ماهی سیم ناشی از افزایش تعداد رهاسازی بچه ماهیان سیم بوده است ولی افزایش صید ماهی سیم به نسبت افزایش تعداد رهاسازی نبوده و بچه ماهیان رهاسازی شده ضریب بازگشتی پایینی داشته‌اند (۲)، همچنین ترکیب سنی این ماهی طی سال‌های گذشته نشانگر این است که قسمت عمده صید از ماهیان غیراستاندارد و نابالغ تشکیل شده است (۱۶). اغلب یک سری واکنش‌های عصبی و سیگنال‌های هورمونی، موجب ترشح هورمون‌ها از هیپوتالاموس می‌شوند (۹). GnRH در هیپوتالاموس مغز سنتز شده و تولید و آزادسازی GTH را از غده هیپوفیز تحریک می‌کند. GTH جهت تحریک تولید استروئیدهای جنسی که موجب رشد گنادها می‌شود، از طریق عملکردهای مختلف شامل فعالیت مکانیسم فیدبکی بر مغز و هیپوفیز، بر گنادها عمل می‌نماید. فاکتورهای زیست محیطی مانند: دمای آب، فوتوپریود و فاکتورهای فیزیولوژیکی مانند: سطح استروئیدهای پلازما، بر عملکرد تولید مثل در ماهیان استخوانی بسیار مؤثرند (۱۱). با توجه به این‌که تا به حال پژوهش و تحقیقی مبنی بر سنجش هورمون (گنادوتروپین‌ها، هورمون‌های استروئیدی گنادی و...) در نتیجه الفاء ترکیبات تحریکی در گونه *Abramis brama* و زیرگونه *orientalis* صورت نگرفته است بنابراین بررسی و سنجش GTH II در نتیجه تزریق LHRHa<sub>2</sub> و آنتاگونیست‌های دوپامین (متوکلوپرامید و کلرپرومازین)، ضروری به نظر می‌رسید.

## مواد و روش کار

**گروه بندی ماهیان:** در تحقیق حاضر، آزمایش بر روی ۶۴ عدد ماهی سیم ماده (BW, kg) ۰/۲۶±۰/۰۱۳۷۱۳۷ در اردیبهشت ۱۳۸۶ صورت پذیرفت، به طوری که ماهیان در ۸ تیمار و هر تیمار شامل ۸ نمونه تقسیم بندی شدند (جدول ۱). روش کار شامل خونگیری اولیه، تزریق ترکیبات مورد نظر و خونگیری ثانویه بود. ابتدا محلول‌های تزریقی آماده گردیدند، هورمون و ترکیبات دارویی شامل LHRHa<sub>2</sub> (ساخت کشور چین) به صورت آمپول‌هایی محتوی ۱۰۰ میکروگرم پودر هورمون، متوکلوپرامید هیدروکلراید و کلرپرومازین (هر دو خریداری شده از شرکت داروسازی تهران شیمی) جهت تزریقات تهیه گردیدند. جهت تزریق، این ترکیبات که به صورت پودر خالص تهیه شدند در حلال سالین ۷ درصد حل شدند (هر سه ترکیب با احتیاق قابل حل بودند). ۱۰۰ میکروگرم هورمون LHRHa<sub>2</sub> (۳ μg/kg) در ۲۵ cc محلول سالین، ۱۰۰ میلی گرم کلرپرومازین (۱۰ mg/kg) در ۲۰ cc محلول سالین و ۱۰۰ میلی گرم متوکلوپرامید (۵ mg/kg) در ۱۰۰ cc محلول سالین حل شدند.



کمتر از ۰/۰۸ IU/L در واکنش با GTH I

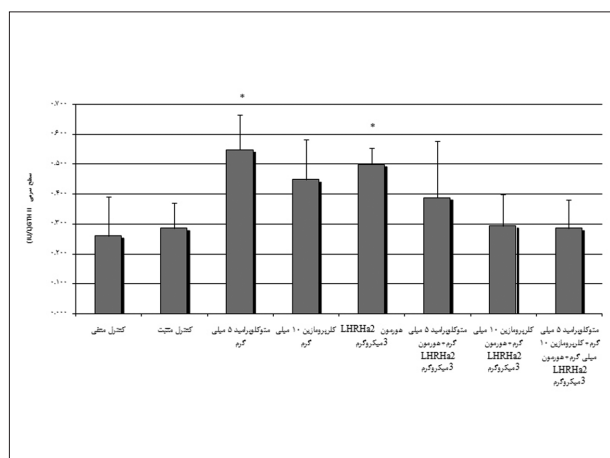
جدول ۲- مقایسه میانگین  $\pm$  خطای استاندارد سطح GTH II در گروه‌های تیماری ۸ گانه.

گروه	تیمار	میانگین سطح II (IU/L) GTH		حداکثر مقدار	حداقل مقدار	تعداد نمونه
		زمان ۵ (5hr)	زمان صفر (0hr)			
۱	کنترل مثبت	۰/۲۸ $\pm$ ۰/۰۸	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۱۳	۰/۵۵	۰/۰۹	۸
۲	متوکلوپرامید (۵ mg/kg)	۰/۵۴ $\pm$ ۰/۱۱	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۱۳	۱/۰۶	۰/۰۷	۸
۳	کلرپرومازین (۱۰ mg/kg)	۰/۴۴ $\pm$ ۰/۱۳	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۱۳	۰/۹۸	۰/۰۲	۸
۴	LHRHa <sub>2</sub> (۳ $\mu$ g/kg)	۰/۵۰ $\pm$ ۰/۰۵	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۱۳	۰/۶۷	۰/۲۷	۸
۵	متوکلوپرامید + LHRHa <sub>2</sub>	۰/۳۸ $\pm$ ۰/۱۸	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۱۳	۱/۶۰	۰/۰۱	۸
۶	کلرپرومازین + LHRHa <sub>2</sub>	۰/۲۹ $\pm$ ۰/۱۰	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۱۳	۰/۷۹	۰/۰۲	۸
۷	متوکلوپرامید + کلرپرومازین + LHRHa <sub>2</sub>	۰/۲۸ $\pm$ ۰/۰۹	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۱۳	۰/۶۲	۰/۰۳	۸
۸	کنترل منفی	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۱۳	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۱۳	۱/۰۶	۰/۰۷	۸

### بحث

طی تجربیات مربوط به تیمار متوکلوپرامید (۵ mg/kg) در تحقیق حاضر مشخص شد که ترکیب مذکور منجر به افزایش سطح سرمی GTH II گردید؛ بطوری که در مقایسه آن با تیمارهای کنترل منفی و کنترل مثبت، مشخص می‌شود که متوکلوپرامید (۵ mg/kg) به شکل معنی‌داری توانسته در افزایش سطح GTH II خون مؤثر واقع شود. همچنین بررسی‌های متعددی نشان می‌دهند که انواع مختلفی از آنتاگونیست‌های دوپامین مانند سولپراید (SUL.) و متوکلوپرامید (MET.) وجود دارند که می‌توانند ترشح GTH II را تحریک کرده و باعث ایجاد اوولاسیون در ماهیان شوند، هنگامی که به تنهایی یا در ترکیب با GnRHa در ماهی طلایی (*Carassius auratus*)، سیم معمولی (*Abramis brama*)، تیلپیا (*Oreochromis niloticus*) و کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) بکار می‌روند (۸). در آزمایش مربوط به تیمار LHRHa<sub>2</sub> (۳  $\mu$ g/kg) در پژوهش حاضر، ترکیب مذکور نیز به شکل مؤثری منجر به افزایش سطح GTH II سرم خون گردیده است؛ در این گروه نیز سطح GTH II در این تیمار در مقایسه با تیمارهای کنترل مثبت و کنترل منفی به شکل معنی‌داری افزایش یافته است. LHRH سنتتیک پستانداران یا آنالوگ آن که آزادسازی گنادوتروپین‌ها را در ماهیان استخوانی تحریک می‌کند، دارای قدرت زیادی جهت ایجاد رسیدگی اووسیت در تمام گونه‌ها می‌باشد (۴). LHRHa اغلب دارای ارجحیت بیشتری نسبت به هورمون گنادوتروپین سنتز شده (عصاره هیپوفیز یا HCG) می‌باشد. زیرا آن‌ها غیر ایمنونژنیک هستند (باعث تحریک سیستم ایمنی نمی‌شوند) و بیشتر جهت تکمیل کنترل رسیدگی نهایی اووسیت (Final Oocyte Maturation) و اوولاسیون تهیه می‌شوند. همچنین LHRHa خیلی سریع از سیستم گردش بدن پاک می‌شود (نیمه عمر ۰/۸ ساعت دارد) و تزریقات متعدد اغلب دارای تأثیرات بیشتری نسبت به تزریقات منفردهستند (۱۵). در تحقیق حاضر در رابطه با اثر ترکیبی LHRHa<sub>2</sub> (۳  $\mu$ g/kg) + متوکلوپرامید (۵ mg/kg)، در مقایسه با گروه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی مشخص می‌شود که بدون هیچگونه اختلاف معنی‌داری سطح GTH II تنها نسبت به گروه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی افزایش یافته است. گاهی روابط معکوس مثبت و منفی که شامل تأثیر یک هورمون بر ترشح و سنتز هورمونی دیگر می‌باشد، ایجاد می‌گردد و به نوبه خود موجب تنظیم ترشح هورمون اولیه می‌شود، ترکیباتی تحت نام Inhibin نیز به نوبه خود موجب تحریک ترشح گنادوتروپین‌ها و استروئیدهای جنسی شده و ترشح GnRH و به دنبال آن فرایند اوولاسیون را به تأخیر می‌اندازد، ترکیبات مذکور از هر دو جهت (مثبت و منفی) بر ترشح استروئیدهای جنسی مؤثر می‌باشند (۵).

ترکیب کلرپرومازین در ماهیان در رابطه با سیستم تولیدمثلی آن‌ها تا به حال در مورد خاصی بررسی نشده است، ولی در سایر جانداران مشخص شده



نمودار ۱- مقایسه میانگین  $\pm$  خطای استاندارد سطح سرمی GTH II در تمامی تیمارها و وجود اختلاف معنی‌داری در سطح ( $p < 0/05$ ).

**تیمار کلرپرومازین + LHRHa<sub>2</sub>:** در این تجربه نیز هیچ گونه تفاوت معنی‌داری از نظر میزان GTH II بین تیمار مذکور و کنترل مثبت و کنترل منفی وجود نداشت ( $p > 0/05$ )

**تیمار متوکلوپرامید + تیمار کلرپرومازین + LHRHa<sub>2</sub>:** در این تجربه نیز با وجود تزریق ترکیبی هر سه ماده نیز بین مقادیر GTH II در تیمار مذکور و تیمارهای کنترل مثبت و کنترل منفی اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ( $p > 0/05$ ) (جدول ۲) (نمودار ۱).

موارد مربوط به سنجش رادیوایمونواسی شامل:

Intra-assay CV%	: 5.7:A
Inter-assay CV%	: 3.31:A
	: 7.67:B
	: 3.76:B
	: 8.31:C
	: 5.79:C

میزان Cross reactivity نیز شامل:

کمتر از ۰/۰۹ IU/L در واکنش با TSH



## References

1. Abbasi, k., Valipour, A., Haghighi, D., Sarpanah A., Nezami, S. (1999) Atlas of iranian fishes gilán inland waters. Gilan Fisheries Research center. pp. 113.
2. Abdolmaleki, S., Ghaninajad, D. (2003) The status sources of teleostes in coast of Caspian sea. Iranian Fisheries Research Organization, Tehran. pp. 1-9.
3. Barth, T., Kouril, J., Hamackova, J., Barthova, j., Hulowa, I., Jezek, J., Pospisek, J. (1997) Induced ovulation and artificial stripping in tench (*Tinca tinca*) and other freshwater fish species by mean of GnRH analogues. Czech experiences 1980-1996. Aminireview. Pol. Arch. Hydrobiol. 44: 183-190.
4. Biome, I., Menahem, D. (1999) Glycoprotein hormone structure-function analog design. Recent prog. Horm. Res. 50: 217 - 288.
5. Donaldson, E. M., Hunter, G. A. (1983) Induced final maturation; ovulation and spermiation in fish cultured. Fish. Physiol. 9: 351 - 403.
6. Dyer, A. R., Upton, Z., Stone, D., Thomas, P. M., Soole, K. L., Higgs, N., Quinn, K., Carragher, J. F. (2004) Development and validation of a radioimmunoassay for fish insulin-like growth factor I (IGF-I) and the effect of aquaculture related stressor on circulating IGF-I levels. General and Comparative Endocrinology. 135: 268-275.
7. Gissis, A., Sivan, B.L., Kedem, H.R., Ofir, M., Yaron, Z. (1991) The effect of gonadotropin releasing hormone superactive analog and dopamine antagonists on gonadotropin level and ovulation in tilapia hybrids. Aquaculture. 43: 123- 136.
8. Glubokov, A. I., Motloch, N. N., Sedova, M. A. (1991) Effect of a synthetic LHRH analogue and dopamine antagonist on the maturation of bream (*Abramis brama L.*) Aquaculture. 95: 373 - 377.
9. Herzog, W., Xianchun, Z., Lele, Z., Sonntag, C., Ting, J.W., Chang, C.Y., Hammerschmedt M. (2003) Adenohypophysis formation in the zebrafish and its dependence on sonic hedgehog. Dev. Biol. 254: 36 - 49.
10. Horvath, L., Szabo, T., Burke, J. (1997) Hachery testing of GnRH analogue-containing pellets on ovulation in four cyprinid species. Pol. Arch. Hydrobiol. 44: 221-226.

که این ترکیب در دوزهای خیلی بالا سطوح ترشحی LH و FSH را کاملاً بلوکه می‌نماید. در گروه آزمایشی مربوط به مقایسه تیمار کلرپرومازین به تنهایی با گروه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی، نتایج نشان می‌دهد که سطح GTH II در تیمار مذکور در مقایسه با تیمارهای کنترل و شاهد بدون اختلاف معنی‌دار آماری است. از طرفی در تیمار مربوط به اثر ترکیبی  $LHRH_2$  ( $3 \mu\text{g/kg}$ ) + کلرپرومازین ( $10 \text{ mg/kg}$ ) که با گروه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی مقایسه شدند، نتایج نشان می‌دهند که در افزایش سطح GTH II هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری نیز وجود ندارد. براساس نتایج حاصله احتمالاً این ترکیب آنتاگونیستی نمی‌تواند به خوبی اثر مهاری دوپامین بر ترشح GTH II را کنترل و بر طرف سازد و دوپامین توانسته اثر مهاری خود را اعمال کند، زیرا این ترکیب احتمالاً از آنتاگونیست‌های قوی دوپامین نبوده و تقریباً به شکل ضعیفی عمل می‌کند. در تیمار مربوط به القاء توأم ترکیبات  $LHRH_2$  ( $3 \mu\text{g/kg}$ ) + کلرپرومازین ( $10 \text{ mg/kg}$ ) + متوکلوپرامید ( $5 \text{ mg/kg}$ ) در پروژه حاضر، طبق نتایج مشخص می‌شود که سطح GTH II در این تیمار در مقایسه با گروه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی دارای اثری برابر می‌باشد. تنظیم خودکار سیستم دوپامینی، فرایند بسیار پیچیده‌ای است، بطوری که تأثیر بسیاری از آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی موجب افزایش تعداد نقاط تماس دوپامین، ترشح و دربرخی موارد سنتز آن می‌گردد. آنتاگونیست‌هایی از قبیل رزپین، متوکلوپرامید و سولپراید که بطور گسترده در ماهی‌ها از آن‌ها استفاده به عمل می‌آید از جمله آنتاگونیست‌های مورد نظر می‌باشند، بدین معنا که حذف دوپامین در ابتدا مانع فعالیت‌های تولید مثلی محور هیپوتالاموس - هیپوفیز شده و سپس فعالیت شدید بازدارنده را به دنبال دارد. (۷، ۱۳). بنابراین  $LHRH_2$  به عنوان یکی از هورمون‌های سنتتیک قوی و مؤثر بوده و سطح GTH II القاء شده با ترکیب مذکور به شکل مؤثری افزایش داشت، متوکلوپرامید نیز یکی از آنتاگونیست‌های مؤثر بوده و GTH II را به صورت معنی‌داری افزایش داده، ولی کلرپرومازین نتوانست اثر مهاری خود بر دوپامین را به شکل کاملی اجرا کند و تقریباً به صورت ضعیفی دارای اثر مهارکنندگی نسبت به دوپامین می‌باشد زیرا هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری ایجاد نکرد.

## تشکر و قدردانی

در پایان از همراهی و همیاری کارشناسان و کارمندان محترم مرکز تکثیر و پرورش ماهی شهید انصاری رشت کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.



11. Kobayashi, M., Amano, M., Hasegawa, Y., Okuzawa, K., Aida, K. (1992) Effects of olfactory tract section on brain GnRH distribution plasma gonadotropin levels and gonadal stage in goldfish. *Zool. Sci.* 9: 765 - 773.
12. Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Targonska, K., Wyszomirska, E., Glogowski, J., Babiak, I., Szabo, T. (2005) Inducing spawning in bream (*Abramis brama* L.) using pellets containing GnRH. *Czech. J. Anim.* 3: 89 - 95.
13. Omeljaniuk, R. J., Shih, S. H., Peter, R. E. (1987) In vivo evaluation of dopamine receptor mediated inhibition of gonadotropin secretion from the pituitary gland of the goldfish (*Carassius auratus* ). *Endocrinol.* 114: 449 - 458.
14. Oryan, s., Parivar, K., Rasekhi, K. (2005) The effects of baclofen (GABA-B receptor agonist) administration alone and accompanied with LRH-A and metoclopramid on GTH I release in carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran.* 60: 265-271.
15. 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.* 166:163 - 177.
16. sayad bourani, M. (2001) Survey quantitative and quality abandon of smolt teleost in Gilan. Iranian Fisheries Research Organization. Gilan. p.p. 117.
17. Sharifi A. and Ramtin, M. (1990) Artificial spawning Biotechnic in Bream, Iranian Fisheries Research Organization. pp.31.



## THE STUDY OF LHRHa2 AND DOPAMINE ANTAGONISTS ON GONADOTROPIN II LEVEL IN *ABRAMIS BRAMA ORIENTALIS* (BERG, 1905)

Koohilai, S.<sup>1</sup>, Oryan, Sh.<sup>2</sup>, Hosseinzadeh sahabi, H.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Marine Biology, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Tehran-Iran.

<sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Tarbiat Moalem University, Tehran, Tehran-Iran.

<sup>3</sup>Iranian Fisheries Research Organization, Tehran-Iran.

(Received 10 March 2009 , Accepted 19 July 2009)

### Abstract:

Synthetic LHRHa or its superactive analogues stimulate GTH release. It shows an overlap in the biological activity of LHRHa and GnRH in many teleost species. The aim of the present study was to investigate the effects of LHRHa<sub>2</sub>, Metoclopramide and Chlorpromazine on HPG axis and plasma levels of GTH II. Luteinizing Hormone Releasing Hormone Analogue 2 (LHRHa<sub>2</sub>) (3 µg/kg) with dopamine antagonists ( Metoclopramide, (5 mg/kg) and Chlorpromazine (10 mg/kg) ) were injected via I.M to 64 female Bream (*Abramis brama orientalis*) (0.71371±0.026 kg, BW) through combined and solitary treatments: Positive Control (saline), Metoclopramide (5 mg/kg), Chlorpromazine (10 mg/kg), LHRHa<sub>2</sub> (3µg/kg), Metoclopramide (5 mg/kg) + LHRHa<sub>2</sub> (3 µg/kg), Chlorpromazine (10 mg/kg)+LHRHa<sub>2</sub> (3 µg/kg), Metoclopramide (5mg/kg) + Chlorpromazine (10 mg/kg)+LHRHa<sub>2</sub> (3 µg/kg) and Negative Control (intact). Fishes were examined through primary bleeding, injection and secondary bleeding. The time interval between two bleeding step was 5h. The GTH II measurement was conducted on the basis of RIA. Results indicate that while LHRHa<sub>2</sub> and Metoclopramide could significantly increase the level of GTH II (p<0.05), Chlorpromazine did not show any significant impact on the increase of GTH II (p> 0.05). Meanwhile, compared to the complex treatments the individual treatments have had relatively significant effects (p< 0.05). All compounds showed a positive stimulation effect on the HPG axis and GTH II level in plasma.

**Keywords:** gonadotropin, LHRHa<sub>2</sub>, dopamine antagonist, *Abramis brama orientalis* (Berg,1905).

\*Corresponding author's email: S\_koohi@iau-tnb.ac.ir, Tel: 021-22977932, Fax: 021-22977861

