تأثیر هورمون $LHRH\text{-}A_2$ به تنهایی و در ترکیب با پیموزاید بر القاء رسیدگی نهایی در ماهی گورامی سه خال ***(Trichogaster trichopterus)***

طاهره ناجی[۱]، همایون حسین زاده صحافی[۲]، گاناز شکیباییان[۳]، محمد کریم جاذبی زاده[۴] و شهرام اجتماعی فر[۵]

۱و ۳- واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلا می

۲- موسسه تحقیقات شیلات ایران

۴- شرکت مهندسی لار

۵- دانشکده پزشکی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۱/۲۹

چکیده

در این تحقیق، تأثیر هورمون $LHRH\text{-}A_2$ به تنهایی و همراه با آنتاگونیست دوپامین (پیموزاید) بر القـای رسـیدگی نهایی در ماهی گورامی سه خال مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور ۸۰ قطعه مـاهی مـاده بـالغ بـه وزن ۳/۵-۲/۵ گرم در ۸ گروه تیماری مورد ارزیابی قرار گرفتند. ماهیان در گروه های مختلف تیماری تحت درمان بـا $LHRH\text{-}A_2$ (دوزهای ۲ و ۸ میکروگرم در هرکیلو گرم وزن ماهی)، پیموزاید (دوز ۵۰ میکروگرم در هر کیلـو گـرم وزن مـاهی) و ترکیبی از $LHRH\text{-}A_2$ و پیموزاید با دوزهای ذکر شده قرار گرفتند. ۲ گروه به عنـوان کنتـرل و ۱ گـروه بـه عنـوان شاهد در نظر گرفته شد. کنترل های ۱و۲ به ترتیب دریافت کننده $DMSO/PG$ به نسـبت ۱بـه ۹و $FIA/Saline$ به نسبت ۱ به ۱ بودند. ۷ روز پس از انجام تزریقات، میانگین درصد شاخص گنادی و ساختار بافت شناسی تخمـدان ماهیان تحت تیمار با گروه شاهد مقایسه گردید. بررسی نتایج حاصـل از مقایسـه میـانگین درصـد شـاخص گنـادی، اختلاف معنی داری را در تیمارهای دوم با درصد GSI (۴/۴۷۷) و پنجم با درصد GSI (۵/۰۲۷) که دریافـت کننـده دوز ۸ میکروگرم $LHRH\text{-}A_2$ به تنهایی و همراه با پیموزاید بودند، در مقایسه با گروه شاهد با درصد GSI (۲/۹۲)

نشان داد ($P<0.05$). این امر در بررسی مقاطع بافتی نیز مورد تأیید قرار گرفت. نتایج بافتی، حـاکی از تأثیرگـذاری بیشتر تیمار پنجم بر تسریع رسیدگی نهایی در ماهی گورامی سه خال بود.

واژگان کلیدی: $LHRH\text{-}A_2$ ، پیموزاید، ماهی گورامی سه خال، رسیدگی نهایی

*مسئول مکاتبه: tnaji2002@gmail,com

مقدمه

کنترل هورمونی امروزه به عنوان ابزاری در جهت تکثیر و پرورش آبزیان به کار گرفته شده است. لذا کسب دانـش در خصوص نوسانات طبیعی هورمون های مؤثر در روند تولید مثلی در محیط های طبیعی، زمینه فراهم آوردن اطلاعات اولیه در رابطه با استفاده های اقتصادی از این علم در جهت تکثیر و پرورش آبزیان را ایجـاد مـی کنـد. یکـی از روش هـای کنتـرل تولیـد مثـل و رشـد مـاهی هـا درآبـزی پـروری اسـتفاده از هورمـون هـا مـی باشـد کـه در برنامه های کاری بسیاری از محققین قرار گرفته است. زمینه اینگونه مطالعات ، اولین بـار در سـال ۱۹۳۴ در کشـور برزیل با تزریق عصاره غده هیپوفیر ماهی ، جهت القاء تخم ریزی فراهم آمـد. بعـدها ایـن روش در کشـورهایی نظیـر روسیه، آمریکای شمالی، هند، چین و بسـیاری از کشـورهای دیگـر از جملـه ایـران جـایگزین گردیـد (حسـین زاده صحافی، ۱۳۸۰).

سیر تحولات در زمینه تکثیر کاملاً مصنوعی گونه فیتوفاگ با تزریق عصاره غده هیپوفیز ماهی کپور معمولی آغاز شـد و پس از آن با پیشرفت هایی همراه بود. تا این که در سال ۱۹۷۴، آزمایش ها، مـؤثر بـودن *LHRH* مصـنوعی را در القای تخم ریزی ثابت کرد ، و در سال ۱۹۷۵، *LHRH-A* با تأثیر خیلی بالا تولید گردید و هزینه تولیـد را کـاهش داد (نظری، ۱۳۷۵).

تاکنون موفقیت استفاده از *GnRH* وآنالوگ های آن در القای رسیدگی نهایی اووسیت و اوولاسـیون در بـیش از ۳۰ گونه ماهی گزارش شده است (*Zohar and Mylonas, 2001*). به دنبال این تحقیقات و بـا مشـخص شـدن اثـر مهـاری دوپـامین ،درآزادسـازی *GTH* در بعضـی ماهیـان و تشـخیص تـأثیر مثبـت و مطلـوب اسـتفاده از ترکیـب آنتاگونیست های دوپامین با هورمون های *GnRH-A* ، تحقیقات و آزمایش هایی هم در ایـن زمینـه انجـام گرفـت (*Diori et al., 1994*) .

در یک پژوهش با استفاده از *GnRH* و یک ماده ضد دوپامین (*Pimozide*) موفقیت هایی در حدود ۸۰در صـد در پیش رس کردن ماهی سیم (*Abramis brama*) بدست آمد (*Omeljaniuk et al., 1987*).

در ایران نیز مطالعه اثـر *GnRH* بـه تنهـایی و یـا در ترکیـب بـا آنتاگونیسـت هـای دوپـامین روی کپـور معمـولی *Cyprinus carpio* (قبـادی ، ۱۳۸۳،و عریـان و همکـاران، ۱۳۸۴) و فیتوفـاگ *Hypophthalamichthys molitrix* (کاشانی ثابت و همکاران، ۱۳۸۳) انجام شد.

با چنین زمینه مطالعات، تحقیق حاضر بر مبنای استفاده از هورمون $LHRH\text{-}A_2$ (آنالوگ *GnRH*) به تنهـایی و در ترکیـب بـا آنتاگونیسـت دوپـامین (پیموزایـد) بـا هـدف تسـریع رسـیدگی نهـایی در مـاهی گـورامی سـه خـال *(Trichogaster trichopterus)* انجام شد.

مواد و روش ها

ماهی گورامی سه خال ماده بالغ ۳/۵-۲/۵ گرم از یک کارگاه تکثیر و پرورش ماهیان تزئینی تهیه گردید .

پس از کلرزدایی آب آکواریوم ها، تعداد ۸۰ قطعه ماهی، در ۸ گـروه مجـزا و هـر گـروه شـامل ۱۰ عـدد مـاهی در آکواریوم ها رها شدند.

این تحقیق از مرداد ماه سال ۱۳۸۷ لغایت مهرماه سال ۱۳۸۷ در *Fishlab* دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویـی صورت پذیرفت. فاکتور های فیزیکوشیمیایی آب که شامل دما (^0C ۳۰-۲۶)، *pH* (۷/۵) و درجه سختی (۳۱۸ میلی گرم در لیتر $CaCo_3$) ، مورد بررسی قرار گرفت.

نمونه ها جهت سازگاری به مدت ۴۸ ساعت در محیط قرار گرفتند . آزمایش ها در ۸ گروه و طبق جدول (۱) صـورت گرفت. با توجه به وزن ماهیا۳/۵-۲/۵ گرم دوز مورد استفاده به ازای وزن بدن هر ماهی محاسبه گردید

. (Ng et. al.,1997)

جدول ۱- انواع تیمارهای مورد بررسی در ماهی گورامی سه خال **(n=10)**

گروه تیماری	ماده تزریقی
۱	*LHRH-A_2 (2µg/kg)*
۲	*LHRH-A_2 (8µg/kg)*
۳	*Pimozide(50µg/kg)*
۴	*LHRH-A_2(2µg/kg)+Pimozide(50µg/kg)*
۵	*LHRH-A_2(8µg/kg)+Pimozide(50µg/kg)*
۶	*Dimethylsulphoxide/Propylen Glycol* (کنترل ۱)
۷	*Ferund's incomplete adjuvant/Saline* (کنترل ۲)
۸	ماهیان بدون تزریق (شاهد)

تزریقات پس از بیهوش کردن ماهی ها با استفاده از عصاره‌ی آویشن درعضله ی زیر باله پشتی صورت گرفت. جهت انجام تزریق *LHRH-A_2* در محلول *FIA* (*Freund Incomplete Adjuant*) و سالین قابل تزریق به نسبت ۱ به ۱ حل شد و آنتاگونیست دوپامین (پیموزاید) در محلول *DMSO/PG* به نسبت ۹: ۱ به صورت سوسپانسیون درآمد(جدول۱).

مقادیر تزریق در هر ماهی ۲۰ میکرولیتر و فاصله دو تزریق در گروه های دریافت کننده‌ی *LHRH-A_2* و آنتاگونیست دوپامین (پیموزاید) ۶ ساعت بود *(Ng et al., 1997)*. پس از انجام تزریقات، ماهی ها در آکواریوم مربوط به گروه مورد نظر رها شده و هر ۲۴ ساعت یکبار بررسی شدند. در پایان روز هفتم، نمونه ها به تعداد ۱۰ قطعه در هر تیمار ، با استفاده از عصاره‌ی آویشن بیهوش و با استفاده از ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۱ گرم) توزین گردیدند. سپس تخمدان ماهی ها به دقت خارج ، و توزین گردید. گردید و وزن آن مورد بررسی قرار گرفت. از هر تیمار، تعدادی تخمدان به عنوان نمونه در محلول فرمالین ۱۰در صد قرار داده شد و پس از طی مراحل پاساژ بافت،

برش گیری (از مقاطع یکسان از تخمدان ماهیان) و رنـگ آمیـزی بـه روش هماتوکسـیلین – ائـوزین، مطالعـه بافـت شناسی تخمدان با استفاده از میکروسکوپ نوری انجام گرفت (ناجی و همکاران، ۱۳۸۷).

شاخص گنادی (GSI) براساس فرمول زیر برای هر ماهی در هر تیمار محاسبه گردید.

$GSI = \frac{WG}{W} \times 100$ که در آن WG وزن گناد (گـرم) و W، وزن کـل بـدن مـاهی (گـرم) اسـت(*Htun-Han, 1979*).

جهت تجزیه و تحلیل داده ها و بررسی معنی دار بودن اخـتلاف مشـاهده شـده در تیمارهـای مختلـف از نـرم افـزار *SPSS* نسخه ۱۱/۵و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه (*one-way ANOVA*)و آزمون مقایسه میانگین دانکـن استفاده شد. برای ترسیم نمودار نیز از نرم افزار *Excel* استفاده گردید.

نتایج

در بررسی مقاطع بافت شناسی تخمدان ماهیان گروه شاهد، بافت تخمدان شامل بافت همبند استروما و سـلول هـای جنسی بود. سلول های جنسی غالباً شامل اووسیت هایی در مرحله پیش هستک (*Perinucleoar stage*) بودند. تعدادی از اووسیت ها نیز در مراحل ابتدایی تولید زرده (*Vitellogenesis*) قرار داشت. وزیکول زایا (*GV*) در مرکز اووسیت و ذرات چربی به صورت پراکنده در اووپلاسم قابل رویت بودند (شکل ۱). در مقاطع بـافتی حاصـل از تیمـار اول در مقایسه با گروه شاهد، تعداد اووسیت های مشاهده شده در مرحله تولید زرده افزایش یافتـه، تعـداد کـم تـری اووسیت در مرحله پیش هستک قرار داشتند. اما همچنان وزیکول زایا در مرکـز اووسـیت و ذرات چربـی بـه صـورت پراکنده در اووپلاسم قابل رویت بودند (شکل ۲).

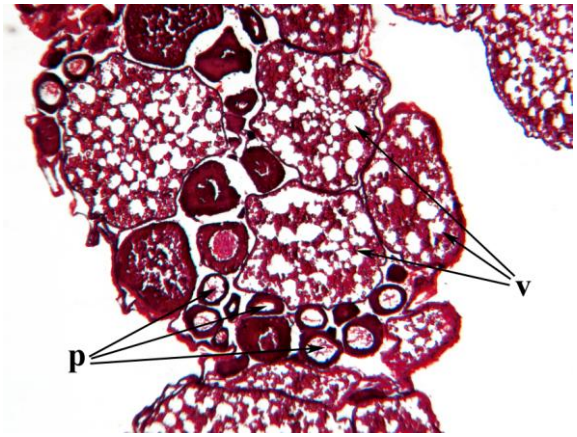
در مقایسه مقاطع بافتی حاصل از تیمار دوم با گروه شاهد، تعداد اووسیت های مشاهده شـده در مرحلـه تولیـد زرده افزایش یافته، تعدادی از اووسیت ها وارد مراحل انتهایی تولید زرده شده بودند، این در حالی است که تعداد اندکی از

اووسیت ها در مرحله‌ی پیش هستک به سر می برند. نکته قابل توجه در این تیمار، شـروع حرکـت وزیکـول زایـا بـه سمت قطب جانوری و اتصال ذرات چربی در بعضی اووسیت ها به یکدیگر بود (شکل ۳).

در بررسی مقاطع بافتی حاصـل از تیمـار چهـارم و مقایسـه آن بـا گـروه شـاهد، سـلول هـای جنسـی غالبـاً شـامل اووسـیت هـایی در مرحلـه تولیـد زرده بودنـد و متعاقبـاً، تعـداد کـم تـری اووسـیت در مرحلـه پـیش هسـتک مشاهده شد. وزیکول زایا در مرکز اووسیت و ذرات چربی به صورت متصل به یکدیگر مشاهده شدند (شکل ۴).

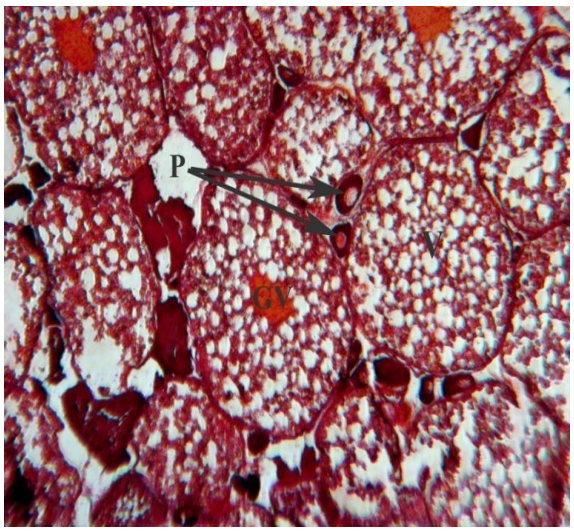
در مقایسه تیمار پنجم با گروه شاهد، اغلب اووسیت ها در مراحل انتهایی تولیـد زرده قـرار داشـتند، تعـداد اووسـیت های مشاهده در مرحله پیش هستک به مراتب کم تر از گروه شاهد بود. نکته قابل توجه در این تیمار، شروع حرکـت وزیکول زایا و حرکت کامل آن به سمت قطب جانوری در بعضی اووسیت ها بود. ذرات چربی در اطراف وزیکـول زایـا به صورت متصل به یکدیگر مشاهده شدند (شکل های ۵ و ۶).

در مقایسه‌ی مقاطع بافتی حاصل از گروه شاهد و تیمار سوم و کنترل های ۱ و ۲ هیچ گونه تغییر چشمگیری از نظـر فاز تکاملی غالب در اووسیت ها مشاهده نشد (شکل های ۷-۱).

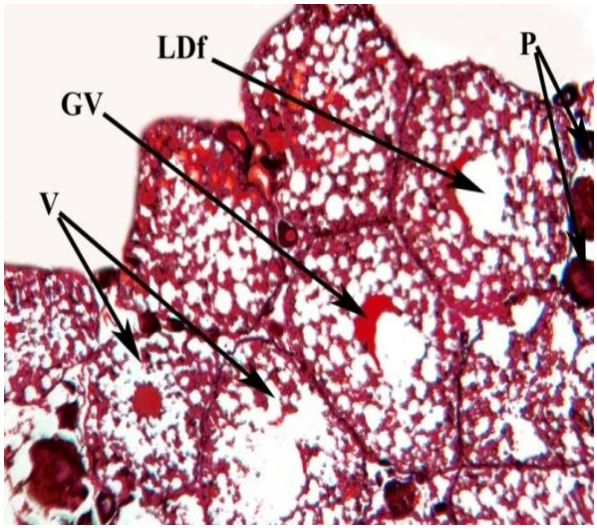


شکل۱-مقطعی ازبافت تخمدان ماهیان گروه شاهد. فاز غالب اووسیت ها شامل مرحله پیش هستک (*P*).

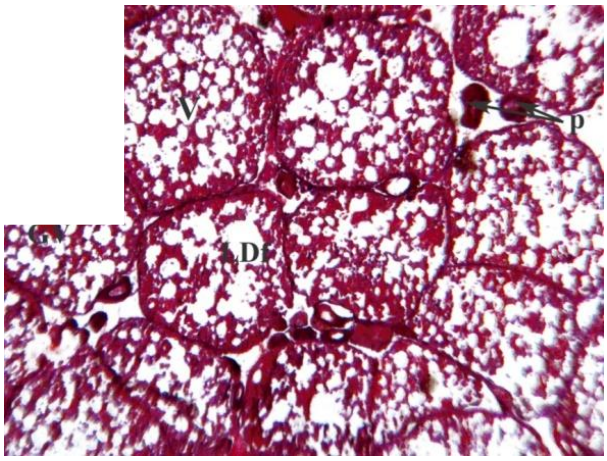
حضور اووسیت هایی در مراحل ابتدایی ویتلوژنز (*V*)،(*X*۴۰۰ ، *H&E*).



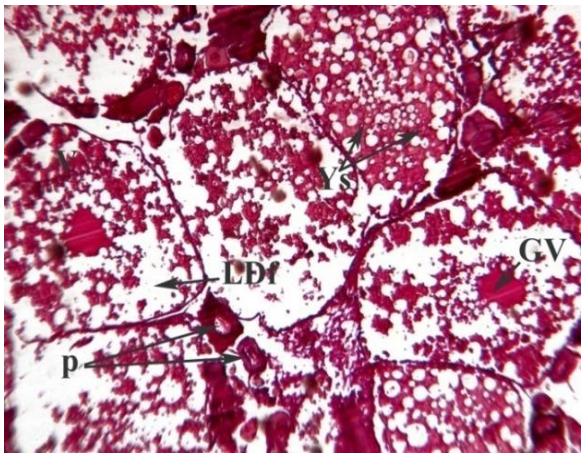
شکل ۲- مقطعی از بافت تخمدان ماهیان تیمار اول. فاز غالب اووسیت ها شامل مرحله ویتلوژنز *(V)*، حضور وزیکول زایا *(GV)* در مرکز اووسیت، (*H&E* , *X* ۴۰۰)



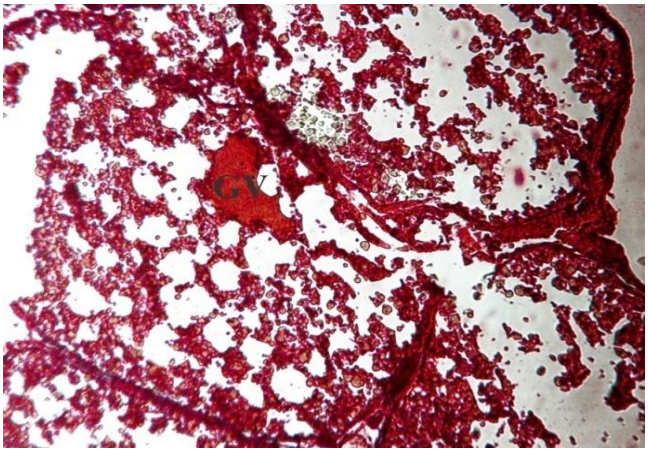
شکل ۳- مقطعی از بافت تخمدان ماهیان تیمار دوم، شروع حرکت وزیکول زایا *(GV)* به سمت قطب جانوری، اتصال ذرات چربی به یکدیگر *(LDf)*، (*H&E , X* ۴۰۰).



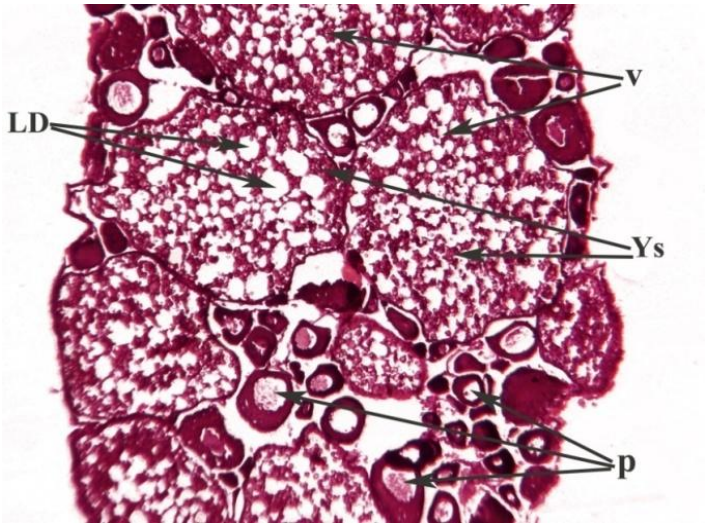
شکل ۴- مقطعی از بافت تخمدان ماهیان تیمارچهارم. فاز غالب اووسیت ها شامل مرحله ویتلوژنز *(V)*، اتصال ذرات چربی به یکدیگر *(LDf)*، (*H&E , X* ۴۰۰).



شکل ۵- مقطعی از بافت تخمدان ماهیان تیمار پنجم، شروع حرکت وزیکول زایا *(GV)* به سمت قطب جانوری، اتصال ذرات چربی به یکدیگر *(LDf)*،(*H&E , X* ۴۰۰).

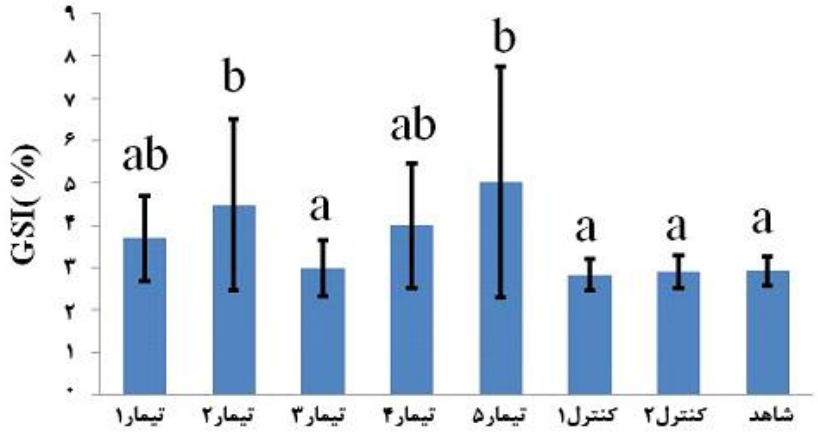


شکل ۶- مقطعی از بافت تخمدان ماهیان تیمار پنجم، اتمام حرکت وزیکول زایا *(GV)* به سمت قطب جانوری، (*H&E , X* ۱۰۰۰).



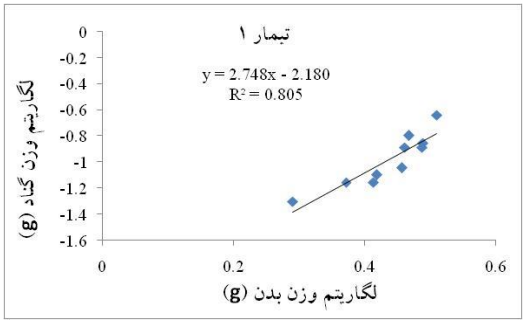
شکل ۷- مقطعی از بافت تخمدان ماهیان تیمار سوم. فاز غالب اووسیت ها شامل مرحله پیش هستک *(P)*، حضور اووسیت هایی در مراحل ابتدایی ویتلوژنز *(V)*، (*H&E , X* ۴۰۰).

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه و همچنین مقایسه میانگین توسط آزمون دانکن، از نظر شاخص گنادی بین تیمارهای مختلف، اختلاف معنی داری را نشان داد ($P <$ ۰/۰۵).

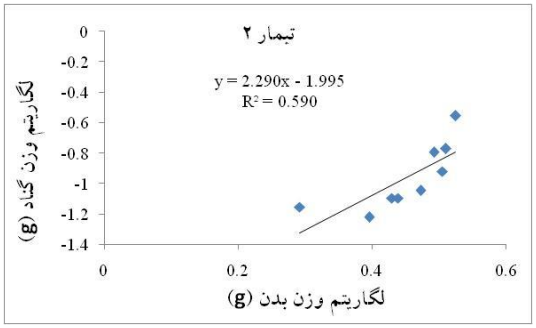


شکل ۸- مقایسه میانگین درصد شاخص گنادی بین گروه های مختلف ماهیان *Trichogaster trichopterus* حروف متفاوت نشانگر وجود اختلاف معنی دار بین هر گروه می باشند.

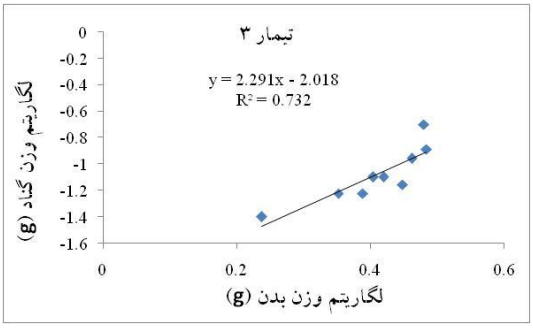
شکل های ارائه شده بعدی، بررسی روابط همبستگی بین لگاریتم وزن گناد در مقابل لگاریتم وزن بدن را نشـان مـی دهند. نکته قابل توجه این است که تیمارهای چهارم و پنجم که تزریق پیموزاید را پیش از تزریق هورمـون دریافـت کرده اند. بالاترین شیب تغییرات را نشان می دهند (شکل های,۱۴، ۱۲،۱۳، ۹،۱۰،۱۱). در واقع به طور معنـی داری در ماهیان بزرگتر رشد گنادی بیشتری در این دو تیمار دیده شد (P<۰/۰۵).



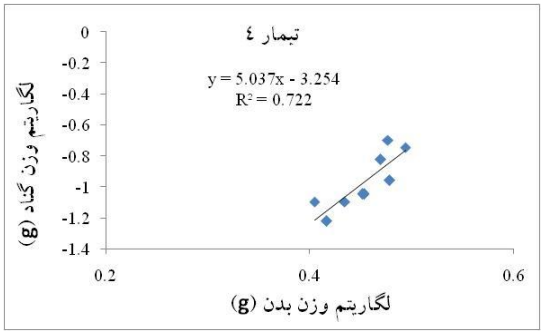
شکل ۹- روند تغییرات وزن گناد درمقایسه با وزن بدن و همبستگی در تیمار ۱



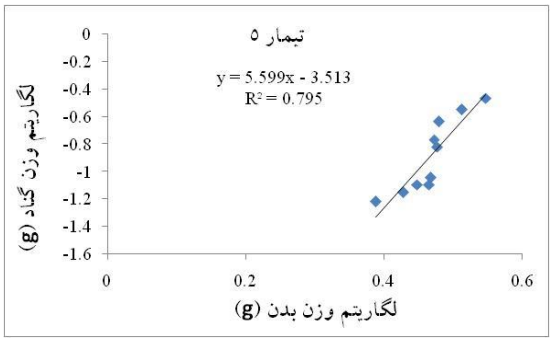
شکل۱۰- روند تغییرات وزن گناد درمقایسه با وزن بدن و همبستگی در تیمار ۲



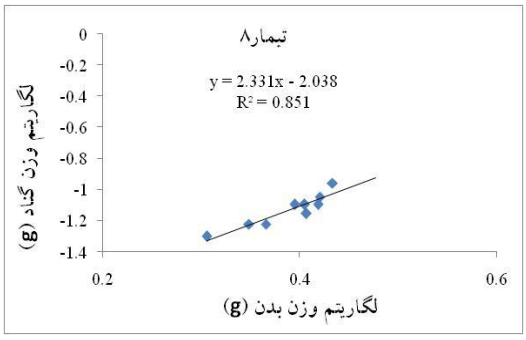
شکل۱۱- روند تغییرات وزن گناد درمقایسه با وزن بدن و همبستگی در تیمار ۳



شکل ۱۲- روند تغییرات وزن گناد درمقایسه با وزن بدن و همبستگی در تیمار ۴



شکل۱۳- روند تغییرات وزن گناد درمقایسه با وزن بدن و همبستگی در تیمار۵



شکل ۱۴- روند تغییرات وزن گناد درمقایسه با وزن بدن و همبستگی در گروه شاهد

بحث و نتیجه گیری

بررسی نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین درصد شـاخص گنـادی بـین تیمارهـای مختلـف و همچنـین بررسـی تغییرات بافت شناسی حاصل از گروه های مختلف از نظر فاز تکاملی غالب اووسیت هـا در هـر گـروه نشـان داد، کـه استفاده از هورمون $LHRH\text{-}A_2$ با دوز ۸ میکرو گرم در هر کیلو گرم وزن ماهی به تنهایی و در ترکیب بـا پیموزایـد

می تواند سبب تسریع در رسیدگی در ماهی گورامی سه خال شود و این تأثیر در اسـتفاده از هورمـون $LHRH\text{-}A_2$ به همراه پیموزاید بارزتر بود.

نتـایج حاصـل از مقایسـه گـروه شـاهد و کنتـرل هـای ۱ و ۲ کـه بـه ترتیـب دریافـت کننـده‌ی *DMSO/PG* و *FIA/Saline* بوده اند، اختلاف معنی داری را از نظر شاخص گنادی نشـان نـداد ($P\geq$ ۰/۰۵). در مقایسـه‌ی مقـاطع بافتی نیز تغییر چشمگیری حاصل نشد. این امر بیانگر بی تأثیر بـودن ترکیـب هـای بـه کـار رفتـه در رونـد تسـریع رسیدگی نهایی می باشد.

بررسی نتایج حاصل از ۲ گروه تیمار $LHRH\text{-}A_2$ با دوزهای ۲ و ۸ میکروگرم در هر ماهی، نشان داد که گـروه هـای تیمار شده با هورمون های $LHRH\text{-}A_2$ از نظر شاخص *GSI* دارای اختلاف معنی دار آماری نسبت به گـروه شـاهد بوده اند ($P<$ ۰/۰۵). این امر در بررسی مقاطع بافتی و مقایسه با گروه شاهد نیز تایید شد.

این نتیجه نشان داد که $LHRH\text{-}A_2$ به عنوان یکی از آنالوگ های فعال *GnRH* توانایی القای رسیدگی جنسی در ماهی گورامی را داراست. *LHRH* سنتیک پستانداران یا آنالوگ آن که‌آزادسازی گنادوتروپین ها را در تلئوست ها تحریک می کند. دارای قدرت زیادی جهت ایجاد رسیدگی اووسیت در تمام گونه ها می باشد (*Biome and Menahe, 1999*). نتیجه این آزمایش با نتایج سایر مطالعات به دست‌آمده در القای رسیدگی جنسی توسط *GnRH-A* در تعدادی از ماهیان استخوانی دیگر مطابقت دارد. بطوری که گزارش های فراوانی از تأثیر *GnRH-A* های مختلف بر رسیدگی اووسیت، اوولاسیون و تخم ریزی ماهیانی همچون ماهی آزاد کوهو *Oncorhynchus kisutch* (Berton *et al.*, 1990)، ماهی سرگنده *Aristichthys noblis* (Fermin, 1991)، ماهی سیم *Abramis brama* (Glubokov *et al.*, 1991)، لای ماهی *Tinca tinca* (Kouril *et al.*, 1986)، خامه ماهی *Chanos chanos* (Lee *et al.*, 1989)، *Paramisguruns dadryanus* (Line *et al.*, 1986)، ماهی کپور *Cyprinus carpio* (Nandeesha *et al.*, 1986) و ماهی طلایی *Carrassius auratus* (Peter *et al.*, 1985) وجود دارد.

مقایسه‌ی میانگین درصد شاخص گنادی بین تیمارهای اول و دوم، اختلاف معنی داری را نشان داد(شکل۸) (P< ۰/۰۵). این امر می‌توانـد حـاکی از تأثیرگـذاری بیشـتر هورمـون $LHRH\text{-}A_2$ بـا دوز ۸ میکـرو گـرم در هـر ماهی۳/۵ گرمی بر روند تسریع رسیدگی جنسی در ماهی گورامی باشد. به گونـه ای کـه در بررسـی مقـاطع بـافتی حاصل از این تیمار، شروع حرکت وزیکول زایا (*GV*) به سمت قطب جـانوری و اتصـال ذرات چربـی بـه یکـدیگر در برخی اووسیت ها مشهود بود در حالی که چنین پدیده هایی که مبین رسیدگی نهایی و بلوغ اووسیت ها مـی باشـد، در مقاطع بافتی حاصل از تیمار اول قابل رویت نبود.

در تحقیقی که توسط *Morehead* و همکاران در سال ۱۹۹۸ در زمینه تأثیر هورمون *LHRH-A* بر بلـوغ جنسـی اووسیت ها در ماهی *Latris linetet* (Stripedtrumpeter)صورت گرفـت، بیـان گردیـد کـه در مقـاطع بـافتی حاصل از ماهیان درمان شده با دوز ۱۰۰میکرو گرم در هر کیلوگرم از وزن بدن تغییر چشمگیری در تعـداد اووسـیت ها، در فازهای *III* و *IV* جنسی مشاهده نشد، این در حـالی اسـت کـه بـا اسـتفاده از دوز ۲۰۰میکـرو گـرم در هـر کیلوگرم از وزن بدن، هورمون‌های *LHRH -A* این تغییر قابل توجه بوده است (Morehead *et al.*, 1998)

از سویی دیگر، در تحقیقی که توسط *Ng* و همکاران در سال ۱۹۹۷در زمینه‌ی القای رسـیدگی نهـایی و اوولاسـیون در ماهی گورامی کوتوله (*Colisa lalia*) صورت گرفت بیان شد، پاسخ تخمـک گـذاری نسـبتاً بـالایی در ماهیـان تحت تیمار هورمون *LHRH -A* با دوزهای ۲ و ۸ میکروگرم در هر ماهی مشاهده شد و این پاسخ فقط در دوزهـای بالاتر مشاهده نگردید (P<۰/۰۵) (Ng *et al.*, 1997).

در مقایسه با میانگین درصد شاخص گنادی بین گـروه شـاهد و تیمـار سـوم کـه دریافـت کننـده ی ۵۰ میکروگـرم پیموزاید در هر ماهی بود، اختلاف معنی داری مشاهده نشد (*P*> ۰/۰۵). این امر در مقایسه‌ی مقاطع بافتی نیـز بـه همین ترتیب ارزیابی گردید(شکل ۸).

نتایج حاصل از این‌آزمایش با نتایج سایر اطلاعات به دست‌آمده در القای رسیدگی جنسی توسـط آنتاگونیسـت هـای دوپامین به تنهایی مطابقت دارد.

در تحقیقی که توسط Bieniarzو همکاران در سال ۱۹۸۶ در زمینه تـأثیر *LHRH-A* بـه تنهـایی و در ترکیـب بـا دومپریدین به عنوان یک آنتاگونیست دوپامین بر القای تخم ریزی در ماهی کپور معمولی صورت گرفت، گزارش شـد که دومپریدین به تنهایی نمی تواند سبب القای تخم ریزی در این ماهی شود(Bieniarz *et al.,* 1986).

با توجه به این که پیموزاید سبب بروز اختلاف معنی داری در روند تسریع رسیدگی جنسی در ماهی نشده است، مـی توان نتیجه گرفت که هر چند پیموزاید بعنوان بهتـرین داروی آنتاگونیسـت دوپـامین ذکـر شـده اسـت (Peter *et al.*,1988) اما به تنهایی برای القای رسیدگی جنسی کافی نیست.

نتایج حاصل از مقایسه گروه شاهد و تیمارهای چهار و پنج که دریافت کننـده هورمـون $LHRH\text{-}A_2$ در ترکیـب بـا پیموزاید بودند، اخـتلاف معنـی داری را در شـاخص *GSI* نشـان داد ($P< ۰/۰۵$). در مقـاطع بـافتی نیـز، تغییـرات چشمگیری از نظر فاز تکاملی غالب اووسیت ها در این دو تیمار قابل مشاهده بود. این امر بیانگر تأثیرگذاری اسـتفاده از هورمـــون $LHRH\text{-}A_2$ در ترکیـــب بـــا پیموزایـــد جهـــت القـــای رســـیدگی نهـــایی در مـــاهی گـــورامی می باشد. براساس یک بررسی در ماهی سیم *Abraims brama* مشخص گردید که *LHRH-A* ، در حالت ترکیب با آنتاگونیست دوپـامین، بـه طـور معمـول در گونـه هـای وحشـی و پرورشـی بـه خـوبی تحریـک ایجـاد مـی کنـد (Kucharcyzyk *et al.*, 2005).

اثر قدرتمند پیموزاید بر *LHRH-A* که منجر به آزادسازی *GTH* می شود، در استفاده ترکیبی به عنوان یک عامـل ایجاد کننده‌ی اوولاسیون جهت تولید حجم زیادی از *GTH* در مرحله‌ی پیش از اوولاسیون به شکل موفقیت آمیزی در کپور معمولی، گلدفیش و گربه ماهی آفریقایی بررسی و اثبات شده است *(De Leeuw et al., 1987)*.

بررسی نتایج حاصل از دو تیمار، اول و چهارم اختلاف معنی داری را از نظر شاخص گنادی بین این دو تیمار نشان نداد ($P> ۰/۰۵$). این امر در بررسی نتایج حاصل از مقایسه دو تیمار دوم و پنجم نیز به همین ترتیب ارزیابی گردید. اما در بررسی روابط همبستگی بین لگاریتم وزن گناد در مقابل وزن بدن اختلاف معنی داری در تیمارهای چهار و پنج در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده شد ($P< ۰/۰۵$)(شکل های۱۱و۱۲). در واقع به طور معنی داری در ماهیان

بزرگتر رشد گنادی بیشتری در این دو تیمار که آنتاگونیست دوپامین را همراه با هورمون $LHRH\text{-}A_2$ دریافت کردند، مشاهده شد.

این امر در شواهد بافت شناسی حاصل از دو تیمار چهار و پنج در مقایسه با تیمارهای اول و دوم نیز مشهود بود (شکل های ۲ ،۳، ۴ ،۵، ۶).

نتایج حاصل از این آزمایش با نتایج حاصل از مطالعات *Ng* و همکاران که در سـال ۱۹۹۷در رابطـه بـا تـأثیر مهـاری دوپامین برآزادسازی *GnRH* در ماهی گوارمی کوتوله صورت گرفت، مطابقت دارد. *Ng* و همکاران گـزارش نمودنـد که سیستم های دوپامینرژیک در *Colisa lalia* ممکن است از طریق گیرنـده هـای D_2 بـه صـورت ترمـزی بـرای محدودسازی تولید یا ترشح *GTH-II* عمل نمایند. اثرمهاری دوپامین بر آزادسازی *GnRH* در ماهیانی نظیر مـاهی طلایی (*Peter et al., 1987*) کپور معمولی (*Fermin, 1991*) و ماهیان دیگر نیز تأیید شده است.

در این تحقیق در مقایسه تأثیر پیموزاید با $LHRH\text{-}A_2$در ماهی گورامی مشخص گردید که جایگاه ایـن دو ترکیـب به لحاظ فیزیولوژیکی متفاوت می باشد. زیرا پیموزاید تنها به عنوان یک آنتاگونیست دوپامین معرفی مـی شـود و بـا توجه به این که دوپامین به عنوان عامل مهاری قوی بـر عملکـرد نوروهورمـون هـایی ماننـد $LHRH\text{-}A_2$ در سـطح گنادوتروف می باشد، لذا ابتدا باید عامل مهاری دوپامین به وسیله آنتاگونیست آن (در اینجا پیموزاید) بر طرف شـود، بنابراین چنانچه این ترکیب به تنهایی به کار رود تنها می تواند این عامل مهاری را بر طرف سازد در ادامه آگونیسـت *GnRH* یا *LHRH-A* می تواند، منجر به افزایش سطح *GTH-II* گردد.

به طور کلی می توان نتیجه گرفت که استفاده از هورمون $LHRH\text{-}A_2$به تنهایی و در ترکیب بـا پیموزایـد بـا دوز ۸ میکروگرم در هر ماهی۳,۵ گرمی می تواند، سبب القای رسیدگی نهایی در ماهی گورامی سه خال شود. گرچـه ایـن دو تیمار تفاوت چشمگیری در شاخص *GSI* با یکدیگر نداشـتند، امـا در مقایسـه مقـاطع بافـت شناسـی و مشـاهده تأثیرگذاری بیشتر، تیمار ۵ که شامل هورمون $LHRH\text{-}A_2$ در ترکیب با پیموزاید بود، می توان به این نتیجه رسـید که ممکن است دوپامین دارایاثر مهاری بر آزادسازی *GnRH* در ماهی گورامی سه خال باشد.

منابع

حسین‌زاده صحافی، همایون. ۱۳۸۰. بیولوژی تولیدمثل ماهی. معاونت توسعه آبزی‌پروی. تهران، ایران.

عریان، شهربانو؛ پریور، کاظم؛ راسخی، خلیل. ۱۳۸۴. بررسی اثرات به‌کارگیری باکلوفن (آگونیست رسپتور *GABA-B*) به تنهایی و همراه با *LHRH-A* و متاکلوپرامید بر آزادسازی *GTH-I* در ماهی کپور (*Cyprinus carpio*). مجله‌ی علمی پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۳ (۶۰): ۲۷۱-۲۶۵.

قبادی، شایان. ۱۳۸۳. بررسی مقایسه‌ای اثرات *LHRH* و آنتاگونیست دوپامین (*Pimozide*) در رسیدگی جنسی مولدین کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، ایران.

کاشانی ثابت، علیرضا؛ عریان، شهربانو و بهمنی، محمود. ۱۳۸۳. القاء اولاسیون در مولدین فیتوفاگ (*Hypophtalamicthys molitrix*) با استفاده از هورمون *LHRH-A* و ترکیب آن با آنتاگونیست‌های دوپامین (متاکلوپرامید و دومپریدون). مجله‌ی علمی شیلات ایران. ۳ (۱۳): ۱۴۴-۱۲۹.

ناجی، طاهره؛ نجات خواه معنوی، پریسا؛ شیرین آبادی، مهرداد. ۱۳۸۷. نقش تیمار های هورمونی ۱۷-بتا استرادیول والرات در تمایز جنسی ماهی قزل آلای رنگین کمان *(Oncorhynchus mykiss)* . مجله‌ی علمی پژوهشی علوم و فنون دریایی. ۲ (۳): ۶۵-۵۷.

نظری، رجب‌محمد. ۱۳۷۵.زیست‌شناسی و تکثیر مصنوعی ماهی کپور نقره‌ای. معاونت تکثیر و پرورش آبزیان اداره‌ی کل آموزش و ترویج. تهران، ایران.

Berton, B.; Weil, C.; Sambron, E. &Zohr, Y. 1990. Effect of acute versus sustained administration of GnRh_A on Gth release and ovulation in the rainbow trout, Oncorhynchus mykiss. Aquaculture, 91:373-383.

Biome, I. & Menahem, D. 1999. Glycoprotein hormone structure-function analogue design. Recent Prog Horm Res., 50: 217-288.

Bieniarz,K.,Epler,P.,Popek,W.,Billard,R.,1986.Effects of pimozide and LHRH-A_2 on Carp (Cyprinus carpio L.) oocyte maturation and ovulation in vivo. Fish physio & Bioch , 2:109-114.

De Leeuw, R.; Goos, J. T. & Van, W.J. 1987. The regulation of gonadotropin release by nourohormone and gonadal steroids in the African cat fish (Clarius gariepinus). Aquaculture. 63:43-58.

Drori, S.; Ofir, M.; Sivan, B. L. & Yaron, Z.1994. Spawning induction in Common carp (Cyprinus carpio) using pituitary extract or GnRH super active analogue combined with methoclopramide: analysis of hormone profile, Progress of oocyte maturation and dependence on temperature. Aquaculture, 119: 393-407.

Fermin, C.A. 1991. LHRH-A and domperidon-induced oocyte maturation and ovulation in bighead carp, Aristichthys nobilis. Aquaculture, 93: 87-94.

Glubokov, A. I.; Motloch, N. N. & Sedova, M. A. 1991. Effect of synthetic LHRH analogue and dopamine antagonists on the maturation of bream, Abramis brama. Aquaculture, 95: 373-377.

Htun-Han, C. 1979. The reproduction biology of the dab limnda limnda in the North sea.Gonadosomatic index, Hepatosomatic index & condition factor. J. Fish. Biol.: 369-378.

Kouril, J. H.; Hunter, G.A.; Donaldson, E.M.; Clarke, W.C. & Baler, I. 1986. Induced ovulation and spermiation in the pacific herring, Clupea harengu pallasi, using salmon pituitary preparations and a synthetic gonadotropin – releasing hormone analogue. Aquaculture, 61:155-160.

Kucharcyzyk, 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 Amin., 3l: 89-95.

Lee, C. S.; Tamaru, C. S.; Kelley, C. S. & Banno, J. E. 1989. Induced spawning of Milkfish, Chanos chanos, by a single application of LHRH analogue. Aquaculture, 58: 87-98.

Lin, H.R.; Chun, p.; Van Der Kraak, G.; Peter, R.E. & Berton, B.1986. Effects of [D-Ala^{6}, pro^{9} –Net] catecholaminergic drugs on gonadotropin secretion and ovulation in the Chinese loach, Paramisgurnus dabryanus.Gen. Comp. Endicriol 64: 383-395.

Morehead, D. T.; Pakhurst, N. W.; Ritar, A. J. 1998. Effect of treatment with LHRH analogue on oocyte maturation, plasma sex steroid levels and egg production in female Striped trumpeter latri lineate (Latrididae). Aquaculture, 169: 315-331.

Nandeesha, M. C.; Das, S. K.; Nathaniel, E.; Verghes, T. J. & Shetty, H.P.C. 1986 Ovaprim a new drug for induced breeding of Carps. Fishing chimes,56: 13-15.

NG, N. K.; Tsi, D.; Muro, A. D. 1997.Induced final maturation and ovulation in small anabantoid teleost, the Dawrf gourami (Colisa lalia). II. The modulatory effects of monoaminergic and opioid drugs on the responsiveness to LHRHa. Aquarium Science and Conversation., Singapor: 199-215.

Omeljaniake, R. J.; Shin, S. H. & Peter, R. E. 1987. Invivo elevation of dopamine receptore- mediated inhibition of gonadotropin secretion from the pituitary gland of the goldfish, Carassius auratus. J. Endcor. 114: 449-458.

Peter, R. E.; Nahorniak, C. S.; Sokolowsha, M.; Change, J.P.; Rivier, J. E.; Vale, W.W.; King, J. A. & Millae, R.P. 1985. Structure- activity relegationship of mammalian, chicken and salmon gonadotropin releasing hormone invivo in goldfish. Gen. Copm. Endocrinol. Peter, R. E.; Sokolowska, M.; Nahornika, C. S.; Rivier, J. E. &Vale, W. W. 1987. Comparison of [D- Arg^{6} Trp^{7} Leu^{8} Pro^{9}] Net sGnRH, and [D-Ala^{6}, Pro^{9} NET] LHRH-A, in combination with pimozide in stimulation gonadotropin release and ovulation in the gold fish, Carrassius auratus. Can. J. Zool., 65: 987-991.

Peter, R. E.; Lin, H. R. & VanDerkraak, G.1988. Induced ovulation and spawning of cultured fresh water fish in china: Advanced in application of GnRH analogues and dopamine antagonist. Aquaculture, 74: 1-10.

Zohar, Y. & Mylonas, C. C. 2001. Enodocrin manipulation of spawning induction in cultured fish frome hormone to gene. Aquaculture, 197: 99-139.