

القاء و همزمان‌سازی اوولاسیون ماهی تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) با استفاده از آنالوگ LHRH و آنتاگونیست‌های اختصاصی رسپتورهای دوپامینی D4 و D2

داود زرغام*^۱، علی شعبانی^۱، همایون حسین زاده صفافی^۲، محمدرضا ایمانپور^۱

۱- گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران،

صندوق پستی: ۴۹۱۷۸-۵۷۴۷۸

۲- مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۹/۱۴۹۶۵

تاریخ پذیرش: ۳ بهمن ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۲۵ شهریور ۱۳۹۵

چکیده

تیلایپا یکی از پر مصرف‌ترین ماهی‌های جهان است و به همین دلیل کشورهای پرورش‌دهنده و میزان تولید آن با سرعت بسیار زیادی رو به افزایش است. بیولوژی تولید مثل جنس *Oreochromis niloticus* دارای برخی ویژگی‌های منفی مانند همآوری پایین و تخم‌ریزی غیر همزمان است و به همین دلیل تلاش‌هایی برای کم کردن این مشکلات صورت گرفته است. یکی از مشکلات و چالش‌ها در کارگاه‌های تکثیر تیلایپا نیز همین عدم همزمانی در رسیدگی جنسی مولدین و تخم‌ریزی ماهی‌های مولد ماده می‌باشد. در این تحقیق اثر تحریکی یک آنالوگ LHRH به تنهایی و نیز همراه با دو آنتاگونیست دوپامینی نسل سوم به نام Clozapine و Olanzapine که به ترتیب محدودکننده عملکرد رسپتورهای دوپامینی D2 و D4 می‌باشند بر همزمانی و افزایش راندمان تکثیر ماهی تیلایپای نیل مورد بررسی قرار گرفته و با یک آنتاگونیست شناخته شده عمومی (دامپریدون) مقایسه گردید. نتایج تحقیق حاکی از بهبود راندمان تولید مثلی تیلایپا در شاخص‌های کیفی و کمی مورد بررسی تحت تأثیر آنتاگونیست‌های دوپامینی بود که در بسیاری از موارد اختلاف معنی‌داری با تیماری بود که تنها آنالوگ LHRH را دریافت کرده بود. این نتایج نشان‌دهنده وجود ممانعت دوپامینرژیک در ماهی تیلایپای نیل می‌باشد. تسریع و همزمانی تخم‌ریزی در مولدین، افزایش قطر تخمک، افزایش درصد تخم‌ریزی مولدین و افزایش شاخص اوولاسیون بخشی از اثرات مثبت تزریق آنتاگونیست‌های دوپامینی در تکثیر این ماهی بود. با جمع‌بندی مقایسه شاخص‌های تکثیر تیمارها می‌توان نتیجه گرفت که تیمارهای نسل سوم در شاخص‌های تکثیر کمی بهتر از دامپریدون عمل کرده‌اند. همچنین نتایج بهتر دوزهای اول‌تراپین نسبت به کلوزاپین نشان می‌دهد که رسپتورهای D2 در ماهی تیلایپا نقش مؤثرتری در تأخیر فرایند تولیدمثل دارند و بلاک کردن این رسپتورها مفیدتر از بلاک کردن رسپتورهای D4 است که احتمالاً تأثیر کم‌تری در ممانعت از تولید مثل دارند.

کلمات کلیدی: تیلایپای نیل، دوپامین، آنتاگونیست دوپامین، اوولاسیون

مقدمه

تیلایا دومین گروه مهم ماهیان پرورشی هستند و پرورش آنها در سه دهه اخیر به دلیل پرورش و بازاریابی آسان رشد قابل توجهی را دارا بوده است، به طوری که از ۱/۵ میلیون تن در سال ۲۰۰۴ به ۳/۹۶ میلیون تن در سال ۲۰۱۰ افزایش یافته است و هم‌اکنون در بیش از ۱۳۰ کشور دنیا پرورش داده می‌شود (FAO, 2013). یکی از خصوصیات مثبت پرورشی تیلایا، تحمل کیفیت پایین آب پرورشی و نیز توان استفاده از محدوده وسیعی از غذاهای زنده می‌باشد. پرورش تیلایا در دنیا به خوبی در آب‌های شیرین، لب شور و دریایی انجام شده است (Campos-Mendoza et al., 2004). همچنین این ماهی توان پرورش چند گونه‌ای (polyculture) را به همراه سایر گونه‌های پرورشی را نیز داراست (Green et al., 2002). گونه *Oreochromis niloticus* یا تیلایای نیل مهم‌ترین و اقتصادی‌ترین گونه تیلایای پرورشی در جهان است که بیش از ۹۰ درصد سهم پرورش در بین گونه‌های مختلف تیلایا را در دنیا به خود اختصاص داده است (Wang and lu, 2015). این گونه توان رشد مناسب تا شوری ۱۵ ppt را دارا می‌باشد و در شوری زیر ۱۰-۱۵ ppt قابلیت تکثیر دارد. ماهی تیلایای ماده بسته به شرایط محیطی و نحوه پرورش هر ۱-۴ هفته و به‌طور غیر همزمان (asynchronous) تخم‌ریزی می‌کند (Baroiller et al., 1997). درحقیقت باید این ماهی را یک ماهی با شکل تولیدمثل Multi Spawning قلمداد کرد. خصوصیات ذکر شده و مجموع مشخصات فیزیولوژیک این ماهی، آن را به یک ماهی مدل مخصوصا در بررسی‌های مرتبط با فیزیولوژی تولید مثل تبدیل نموده است (Levavi-Sivan et al., 2010).

تولید و پرورش تیلایا در ایران سابقه چندانی ندارد. تنها اقدام انجام شده مربوط به وارد کردن تیلایای نیلی و قرمز در سال ۱۳۸۷ توسط مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران باهدف معرفی گونه جدید به صنعت آبی‌پروری می‌باشد. تحقیقات روی تکثیر، پرورش، تغذیه و سایر عوامل مربوط به تولید این ماهی در مرکز تحقیقات ماهیان آب شور بافق استان یزد با موفقیت در حال انجام است.

در فرایند تولیدمثل ماهیان استخوانی، به علت عدم وجود ارتباط خونی بین هیپوتالاموس و هیپوفیز، تعداد کثیری از نوروهورمون‌های هیپوتالاموسی مسئولیت تنظیم ترشح GnH را بر عهده دارند (Wang et al., 2011) که از مهم‌ترین این نوروهورمون‌ها می‌توان به GnRH و دوپامین اشاره کرد (Levavi-Sivan et al., 2010). طبق تحقیقات انجام شده، معرفی آنالوگ‌های GnRH راندمان القاء بلوغ و تخم‌ریزی را در بسیاری از گونه‌های ماهیان دریایی ارتقا می‌دهد (Park et al., 2007). در برخی از گونه‌های ماهی‌ها مانند قزل‌آلا و برخی ماهیان دریایی، GnRH به تنهایی رسیدگی جنسی را القاء و روند تخم‌ریزی را تسریع می‌کند. ولی در بسیاری از ماهیان به علت وجود بازدارندگی‌های دوپامینرژیک اثرممانعتی دوپامین درون‌زاد به حدی قوی است که شدیداً توان GnRH وارد شده به بدن ماهی جهت افزایش ترشح گنادوتروپین خنثی می‌کند. اهمیت و شدت ممانعت‌های دوپامینرژیک در بین ماهیان استخوانی متفاوت است. وجود این بازدارندگی در ماهی تیلایا به اثبات رسیده است (De Leeuw et al., 1995; Levavi-Sivan et al., 1989). به علت وجود این بازدارندگی‌های دوپامینرژیک در این گروه از ماهیان ضرورت اضافه کردن ترکیبات آنتاگونیست

که محدودکننده عملکرد رسپتورهای دوپامینی گروه D2 می‌باشند بر هم‌زمانی و افزایش راندمان تکثیر ماهی تیلایپای نیل مورد بررسی قرار گرفته و با یک آنتاگونیست شناخته شده عمومی (دامپریدون) مقایسه شده است. Olanzapine آنتاگونیست اختصاصی رسپتورهای D2 و Clozapine آنتاگونیست اختصاصی رسپتورهای دوپامینی D4 هستند و میل ترکیبی آنها با رسپتورهای غیر اختصاصی خود به شدت پایین است. اولانزاپین به طور اختصاصی رسپتورهای D2 (DRD2) را تحت تأثیر قرار می‌دهد و با آنها اتصال برقرار می‌کند و کلوزاپین به‌طور اختصاصی گرایش به رسپتورهای DRD4 (D4) دارد (Van Bohmler et al., 2007; Van Tol et al., 1991). به طوری که گرایش کلوزاپین به اتصال با رسپتورهای D4 ۱۰ برابر بیش‌تر از رسپتورهای D2 است (Sanyal and Van Tol, 1997).

مواد و روش‌ها

مراحل عملی این تحقیق از فروردین تا مرداد ۱۳۹۳ در مرکز تحقیقات ماهیان آب شور مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی ایران واقع در شهر بافق استان یزد انجام شد.

آماده‌سازی و نگهداری ماهی‌ها

به منظور شروع کار، مولدین ماده و نر تیلایپای نیل (*Oreochromis niloticus*) موجود در مرکز به نسبت ۱:۳ و به طریق Mix Breeding تکثیر شدند. از نسل حاصله، تعدادی بچه‌ماهی جهت انجام این تحقیق به طور جداگانه نگهداری شدند (Arabaci and Sari., 2004). بچه‌ماهی‌های به‌دست آمده تا پیش از اولین بلوغ در شرایط عادی پرورش و رژیم نوری ۱۲ L +

دوپامین به منظور ترشح گنادوتروپین‌ها در پاسخ به GnRHa و تقویت عملکرد GnRH احساس شد (Peter et al., 1988; Podhorec et al., 2012). طبق این روش‌ها استفاده هم‌زمان یک آنتاگونیست قوی رسپتور دوپامین و آنالوگ فوق فعال GnRH پاسخ به GnRH را از طریق کاهش فعالیت بازدارندگی دوپامینرژیک در گونه هدف تقویت و باعث ترشح گنادوتروپین درون-زاد (GtH) می‌شود (Sharaf, 2012; Wang et al., 2009). به کار بردن چنین تیمارهای ترکیبی به عنوان "Linpe Lin et al., 1986; (Peter et al., 1988) شناخته شده است (Lin et al., 1986; Wang et al., 2009).

در ماهی‌ها دو گروه رسپتور دوپامین به نام D1 like و D2 like وجود دارند که تحریک رفتار جنسی جنس ماده در حیوانات مختلف، پس از دستکاری رسپتورهای گروه D2 گزارش شده است. گروه رسپتورهای D2 شامل رسپتورهای D2، D3 و D4 می‌باشد. آزمایشات مختلفی درگیری و حضور رسپتورهای D2 Like را در ممانعت دوپامینرژیک برای ترشح گنادوتروپین مستقیماً در سطح هیپوفیز اثبات و بیان کرده‌اند (Vacher et al., 2000; Levavi-Sivan et al., 1991; Peter et al., 2005).

بیولوژی تولیدمثل جنس *Oreochromis* دارای برخی ویژگی‌های منفی مانند هم‌آوری پایین و تخم‌ریزی غیر هم‌زمان است (Rana 1990; Ridha et al., 2004) و به همین دلیل تلاش‌هایی برای کم کردن این مشکلات صورت گرفته است (Little et al., 1993; Bhujel, 2000). در این تحقیق اثر تحریکی یک آنالوگ LHRH (des-Gly10, [D-Ala6] LH-RH) همراه با دو آنتاگونیست دوپامینی نسل سوم به نام Clozapine و Olanzapine

محلول LHRHa مخلوط شد به طوری که به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی‌های این تیمار ۱۰ میلی‌گرم دامپریدون و ۲۰ میکروگرم LHRHa تزریق شود (Wang *et al.*, 2009; Pham *et al.*, 2010; Podhorec *et al.*, 2012; Peykan Heyrati *et al.*, 2007). اولانزاپین و کلوزاپین نیز به صورت محلول تهیه شد و تیمارهای دریافت کننده اولانزاپین به ترتیب ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم دارو را به همراه ۲۰ میکروگرم LHRHa به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی دریافت کردند (تیمارهای OLA1, OLA2, OLA3). همچنین تیمارهای دریافت کننده کلوزاپین به ترتیب ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم دارو را به همراه ۲۰ میکروگرم LHRHa به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ماهی دریافت کردند (تیمارهای CLO1, CLO2, CLO3). یک تیمار نیز ترکیب ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم کلوزاپین و ۵ میلی‌گرم اولانزاپین را به همراه ۲۰ میکروگرم در کیلوگرم LHRHa را دریافت کرد (تیمار CO) تیمار شاهد مثبت فقط مورد تزریق با حلال قرار گرفت (تیمار PC). تیمار شاهد منفی نیز بدون تزریق در شرایط برابر با تیمارها نگهداری شد (تیمار NC). حجم تزریق ۰/۱ تا ۰/۱۵ میلی‌گرم به ازای هر ماهی بود (Peykan Heyrati *et al.*, 2007).

عملیات تزریق و تکثیر

آزمایش در ۱۱ تیمار انجام گرفت و هر تیمار به ۳ تکرار تقسیم گردید. مجموعاً ۱۶۵ ماهی پیش‌مولد ماده در ۳۳ تکرار آزمایش تقسیم و آماده تزریق گردید. تزریق داروها به صورت یک مرحله ای و به روش درون‌صفاقی یا Intraperitoneal صورت گرفت (Podhorec *et al.*, 2012; Park *et al.*, 2007). پس از تزریق ماهی‌های ماده به نسبت ۱:۱ در کنار مولدین نر

12 D نگهداری و با تراکم ۵ بچه ماهی در لیتر پرورش داده شدند (El-Sayed, 2006). در شرایط طبیعی این مرکز اولین تکثیر ماهیها بالای وزن ۸۰ گرم صورت می‌پذیرد (مشایی، ۱۳۹۲). با نزدیک شدن به سن بلوغ، ماهی‌ها به طور هفتگی به منظور بررسی مرحله رسیدگی گنادی معاینه و توزین شدند. زمانی که میانگین وزن ماهی‌ها به نزدیک ۸۰ گرم رسید، تزریق آنتاگونیست‌ها انجام شد.

آماده‌سازی محلول‌های تزریقی

برای انجام این تحقیق آنالوگ LHRH با نام D-Ala6-des-Gly10 LHRH ethylamide ساخت شرکت Syndel کانادا استفاده شد. همچنین دامپریدون مورد نیاز این آزمایش ساخت شرکت VASUDHA PHARMA CHEM LTD هندوستان بود. دو آنتاگونیست مورد استفاده در این آزمایش Clozapine و Olanzapine بودند که به ترتیب ساخت شرکت Lee Pharma ایتالیا و شرکت Cambrex profarmaco هندوستان بودند. این دو آنتاگونیست جزو نسل سوم آنتاگونیست‌های دوپامینی به‌شمار می‌آیند (Gerald and Maguire; 2002). حلال مورد استفاده در این آزمایش دی‌متیل سولفو کساید (DMSO) و ساخت شرکت DAEJUNG چین بود (Wang *et al.*, 2009). LHRHa جهت تزریق در حلال DMSO حل و رقیق شد تا نهایتاً برای تیماری که می‌بایست LHRHa تنها را دریافت کند به میزان ۲۰ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن LHRHa به ماهی‌ها تزریق گردید (تیمار LHRH). برای تیماری که می‌بایست LHRHa و دامپریدون دریافت کند (تیمار DOM)، دامپریدون نیز در حلال DMSO حل شد و با مقادیر لازم از

منظور بررسی‌های آماری نرم افزار SPSS نسخه ۲۰۰۰ مورد استفاده قرار گرفت. در اولین گام نتایج سطوح هورمونی، موفقیت تخم‌ریزی، دوره تاخیر، شاخص اوولاسیون، موفقیت باروری، غلظت ویتلوژنین، آنزیم آروماتاز، GSI و قطر اووسیت از نظر نرمال بودن داده‌ها با آزمون One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test بررسی شدند و پس از تأیید نرمال بودن نتایج، آزمون پارامتریک آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) جهت بررسی معنی‌دار بودن اختلافات اجرا شد. سپس تست چند دامنه‌ای دانکن (Duncan Multiple Range Test). جهت تعیین اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها اجرا گردید و نتایج به دست آمده با سطح اطمینان ۹۵٪ ($P \leq 0.05$) بیان گردید (Pham *et al.*, 2010).

نتایج

با اندازه‌گیری و محاسبه شاخص‌های مختلف تکثیر نتایج زیر حاصل گردید: نتایج مربوط به موفقیت تخم‌ریزی به این صورت بود که کم‌ترین درصد تخم‌ریزی در تیمارهای شاهد مثبت و شاهد منفی با ۲۰٪ موفقیت تخم‌ریزی اتفاق افتاد که تنها ۳ ماهی از ۱۵ ماهی این دو تیمار تخم‌ریزی کردند. بالاترین درصد تخم‌ریزی نیز متعلق به تیمار OLA1 با ۸۰٪ موفقیت بود (جدول شماره ۱). البته همگی تیمارهای تزریقی آزمایش درصد بالاتری از تخم‌ریزی را نشان دادند و از این نظر دارای اختلاف معنی‌دار با تیمارهای شاهد بودند ($P \leq 0.05$). میانگین دوره تأخیر تخم‌ریزی تیمار شاهد منفی 4 ± 48 ساعت و میانگین دوره تأخیر تیمار شاهد مثبت 8 ± 52 ساعت ثبت گردید. این دو تیمار طولانی‌ترین دوره تأخیر را داشتند و از این نظر اختلاف

در تانک‌های فایبرگلاس و با تراکم ۱۲ ماهی در تانک ۲۰۰۰ لیتری نگهداری شدند و از ۶ ساعت پس از تزریق جهت بررسی اوولاسیون در فواصل ۴ ساعته به طور منظم معاینه شدند. در زمان تزریق pH آب برابر با ۸/۲۲، شوری ۸/۷-۸/۹، دما ۲۶/۹ و اکسیژن محلول ۶/۵۶ ثبت شد. تعداد ماهی‌هایی که تا ۵ روز پس از تزریق در هر تیمار تخم‌ریزی کردند یادداشت و به عنوان موفقیت تخم‌ریزی یا درصد تخم‌ریزی ثبت گردید. فاصله زمان تخم‌ریزی نمونه‌های هر تیمار با تزریق به عنوان دوره تاخیر (Latency period) منظور و ثبت شد. پس از تکثیر، قطر تخمک استحصالی از هر تیمار اندازه‌گیری و درصد باروری هر تیمار نیز ثبت گردید (Szabo *et al.*, 2002). ماهی‌ها پس از تکثیر به منظور بررسی و توزین گناد و نمونه‌برداری از گناد و کبد به آرامی کشته شدند. پس از تشریح، گنادها بیرون آورده و به منظور محاسبه شاخص گنادوسوماتیک توزین شدند و باقی‌مانده تخمک‌های درون تخمدان جهت تعیین شاخص اوولاسیون (OI) (نسبت تخمک استحصالی از هر ماهی به کل تخمک تولیدشده) شمارش شد و نرخ اوولاسیون یا موفقیت اوولاسیون (نسبت ماهیان اووله شده به کل ماهی‌های تزریقی) محاسبه گردید. همچنین کبد ماهی‌ها جهت محاسبه شاخص هپاتوسوماتیک جداسازی و توزین گردید (Sharaf, 2012; wang *et al.*, 2009). در نهایت تلفات هر کدام از تیمارها در طول دوره آزمایش به منظور مقایسه تأثیرات منفی داروها یادداشت گردید.

آنالیز آماری

نتایج حاصله در این تحقیق به صورت میانگین \pm انحراف از معیار (Mean \pm SD) ارائه گردیده‌اند. به

معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. تیمار DOM با 5 ± 20 ساعت و تیمار OLA 1 با دوره تأخیر 4 ± 20 سریع‌ترین جواب‌دهی را دارا بودند. در این شاخص هم همه تیمارهای تزریقی با تیمارهای شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بودند (جدول ۱). میزان لقاح یا موفقیت باروری در بین تخم‌های استحصالی از ماهی‌های تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و نتایج همه تیمارها از 68% تا 75% متغیر بود. نتایج شاخص اوولاسیون در مورد تیمارهای مختلف آزمایش به این صورت بود که تیمار شاهد منفی با 4 ± 45 درصد کم‌ترین شاخص اوولاسیون را دارا بود و این عدد در مورد تیمار شاهد مثبت 2 ± 57 درصد به دست آمد. بالاترین مقدار شاخص اوولاسیون نیز برای تیمار OLA2 با 6 ± 74 درصد ثبت گردید. این شاخص در تیمارهای DOM، OLA1، OLA2 و CO اختلاف تیمارهای شاهد و LHRH داشت (جدول ۲).

معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. تیمار DOM با 5 ± 20 ساعت و تیمار OLA 1 با دوره تأخیر 4 ± 20 سریع‌ترین جواب‌دهی را دارا بودند. در این شاخص هم همه تیمارهای تزریقی با تیمارهای شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بودند (جدول ۱). میزان لقاح یا موفقیت باروری در بین تخم‌های استحصالی از ماهی‌های تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و نتایج همه تیمارها از 68% تا 75% متغیر بود. نتایج شاخص اوولاسیون در مورد تیمارهای مختلف آزمایش به این صورت بود که تیمار شاهد منفی با 4 ± 45 درصد کم‌ترین شاخص اوولاسیون را دارا بود و این عدد در مورد تیمار شاهد مثبت 2 ± 57 درصد به دست آمد. بالاترین مقدار شاخص اوولاسیون نیز برای تیمار OLA2 با 6 ± 74 درصد ثبت گردید. این شاخص در تیمارهای DOM، OLA1، OLA2 و CO اختلاف

جدول ۱: نتایج مربوط به موفقیت تخم‌ریزی، دوره تأخیر، موفقیت باروری و شاخص اوولاسیون (میانگین \pm انحراف ازمعیار)

نام تیمار	موفقیت تخم‌ریزی (درصد)	دوره تأخیر (ساعت)	موفقیت باروری (درصد)	شاخص اوولاسیون (درصد)
NC	20^a	48 ± 4^c	75 ± 2^a	45 ± 4^a
PC	20^a	54 ± 8^c	71 ± 4^a	57 ± 2^{ab}
LHRH	40^b	28 ± 6^b	74 ± 6^a	62 ± 6^b
DOM	66^c	20 ± 5^a	68 ± 4^a	67 ± 3^c
OLA 1	80^c	20 ± 4^a	68 ± 2^a	70 ± 5^c
OLA 2	72^c	22 ± 2^a	69 ± 3^a	74 ± 6^c
OLA 3	60^{bc}	24 ± 4^a	74 ± 4^a	62 ± 2^b
CLO 1	47^b	34 ± 6^b	75 ± 7^a	64 ± 5^b
CLO 2	59^{bc}	26 ± 4^a	76 ± 4^a	68 ± 1^{bc}
CLO 3	53^b	24 ± 2^a	70 ± 1^a	65 ± 4^b
CO	72^c	24 ± 0^a	72 ± 2^a	67 ± 3^c

جدول ۲: نتایج مربوط به شاخص‌های درصد تلفات، قطر تخمک، شاخص گنادوسوماتیک و شاخص هپاتوسوماتیک (میانگین \pm انحراف از معیار)

نام تیمار	تلفات (درصد)	قطر تخمک (میلی متر)	شاخص گنادوسوماتیک (درصد)	شاخص هپاتوسوماتیک (درصد)
NC	-	2 ± 0.12^a	$3/19 \pm 0.1^a$	$2/31 \pm 0.2^a$
PC	۶/۶	$1/7 \pm 0.41^a$	$3/21 \pm 0.35^a$	$2/24 \pm 0.46^a$
LHRH	-	$1/9 \pm 0.27^a$	$3/92 \pm 0.51^{ab}$	$2/27 \pm 0.3^a$
DOM	۱۳/۲	$2/5 \pm 0.32^b$	$5/1 \pm 0.67^c$	$2/85 \pm 0.65^b$
OLA 1	۶/۶	$2/6 \pm 0.4^{ab}$	$5/27 \pm 0.8^c$	$3/57 \pm 0.5^{bc}$
OLA 2	۱۳/۲	$2/4 \pm 0.43^b$	$4/7 \pm 0.8^b$	$3/63 \pm 0.81^{bc}$
OLA 3	۲۷	$2/7 \pm 0.16^b$	$4/61 \pm 0.61^b$	$3/85 \pm 0.97^c$
CLO 1	-	$1/8 \pm 0.21^a$	$3/95 \pm 0.45^{ab}$	$2/35 \pm 0.5^a$
CLO 2	۱۳/۲	$1/9 \pm 0.13^a$	$4/0.3 \pm 0.2^{ab}$	$2/53 \pm 0.75^a$
CLO 3	۲۰	$2/2 \pm 0.43^{ab}$	$4/23 \pm 0.35^{ab}$	$2/69 \pm 0.58^{ab}$
CO	۱۳/۲	$3/1 \pm 0.36^b$	$4/56 \pm 0.78^b$	$3/0.1 \pm 0.68^b$

اما در تیمارهای CLO1 و CLO2 و CLO3 اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شاهد و LHRH دارا نبود. تیمار ترکیبی CO دارای شاخص هپاتوسوماتیک $3/0.1 \pm 0.68$ بود که این عدد اختلاف معنی‌داری با نتایج مربوط به تیمارهای شاهد و تیمار LHRH داشت (جدول ۲).

بحث

یکی از مشکلات و چالش‌ها در کارگاه‌های تکثیر تیلایپا عدم هم‌زمانی در رسیدگی جنسی مولدین و تخم‌ریزی ماهی‌های مولد ماده می‌باشد که برای یک کارگاه تکثیر دشوار و هزینه‌بر است (El-sayed, 2006). وقوع تخم‌ریزی در تیمارهای شاهد نشان‌دهنده انتخاب مناسب سائز ماهی‌های مورد آزمایش آمادگی جنسی ماهی‌های انتخاب شده برای آزمایش بود. مشایبی (۱۳۹۲) نیز نخستین سائز بلوغ را در شرایط

نتایج مربوط به شاخص گنادوسوماتیک به این ترتیب بود که تیمار شاهد منفی با $3/19 \pm 0.1$ و تیمار شاهد مثبت با $3/21 \pm 0.35$ کم‌ترین مقادیر را دارا بودند و از این نظر اختلاف معنی‌داری نداشتند. بالاترین رقم مربوط به تیمار OLA1 و برابر با $5/27 \pm 0.8$ به دست آمد که به جز تیمار DOM با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۲).

نتایج مربوط به شاخص هپاتوسوماتیک تیمارهای مختلف به این صورت بود که این شاخص برای تیمار شاهد منفی معادل $2/31 \pm 0.2$ و برای تیمار شاهد مثبت برابر $2/24 \pm 0.46$ به دست آمد. در مورد تیمار LHRH این عدد اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شاهد مثبت نداشت. این شاخص در تیمار DOM با تیمارهای شاهد مثبت و شاهد منفی و تیمار LHRH اختلاف معنی‌داری داشت ($P \leq 0.05$). این اختلاف معنی‌دار در مورد تیمارهای OLA1، OLA2 و OLA3 هم مشاهده شد

مذکور در همین محدوده وزنی ذکر کرده است. دلیل انتخاب ماهی‌های پیش‌مولد این بود که ممانعت دوپامینرژیک در مرحله پیش‌بلوغ شروع می‌شود و اوج این ممانعت در مرحله ویتلوژنز دیده می‌شود (Levavi-Sivan *et al.*, 2010). مقایسه نتایج شاخص‌های تکثیر در تیمارهای آنتاگونیستی با تیمار LHRH تأیید کننده وجود ممانعت دوپامینرژیک در وقایع رسیدگی تخمدانی و تخم‌ریزی ماهی تیلاپیا می‌باشد که مانع از عملکرد LHRH در فرایند تولیدمثل می‌شود. وجود این ممانعت دوپامینرژیک در ماهی تیلاپیای نیل توسط Levavi-Sivan و همکاران در سال‌های ۱۹۹۵ و ۲۰۰۳ بیان شده است. جداول ۱ و ۲ نشان می‌دهد که نتایج تکثیر گروه‌های کنترل مثبت و منفی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که حلال دی‌متیل سولفو کساید در روند تولیدمثل بی‌تأثیر است. در تحقیقات دیگری نیز از این ماده به عنوان حلال استفاده شده است که گزارشی از تأثیر آن بر روند تولیدمثل ماهی‌ها وجود ندارد (Wang *et al.*, 2009). نتایج موفقیت باروری در بین تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌داد که این مسأله نشان می‌دهد که استفاده از LHRHa، دامپریدون، کلوزاپین و اولانزاپین تأثیر منفی بر روی زیست‌پذیری (Viability) تخمک آزاد شده ماهی‌ها ندارد. نتایج مشابهی نیز در مورد کپور معمولی (Dorafshan *et al.*, 2003)، شاه‌ماهی مرواریدی (Arabasi and Sari, 2004) و ماهی سفید (Paykan Heyrati *et al.*, 2007) گزارش شده است. موفقیت باروری در تیمارهای این آزمایش از ۶۸٪ تا ۷۵٪ متفاوت بود که کمی پایین‌تر از نتایج گزارش شده توسط هوی و همکاران در سال ۲۰۱۲ می‌باشد که حداکثر باروری را ۸۷/۵٪ گزارش کرده‌اند. احتمالاً این اختلاف به علت تفاوت در فاکتورهای فیزیوشیمیایی آب تکثیر در دو آزمایش است. Hui و همکاران (۲۰۱۲) بهترین ترکیب درجه حرارت/شوری/ pH برای به‌دست آوردن بالاترین درصد باروری در تیلاپیای نیل را چنین اعلام می‌کند: درجه حرارت ۲۷/۶ درجه سانتی‌گراد/شوری ۹/۵ گرم در لیتر و pH برابر با ۷/۵. همچنین مشایی (۱۳۹۴) نیز بهترین شوری را برای تکثیر تیلاپیای نیل ۸ میلی‌گرم در لیتر بیان می‌دارد. بالاترین قطر تخمک در تیمار CO با 3.1 ± 0.36 میلی‌متر و کم‌ترین آن ۴۱ در تیمار شاهد با 1.7 ± 0.41 میلی‌متر ثبت گردید. Kjorswik و همکاران (۱۹۹۰) افزایش سایز تخمک را ناشی از افزایش ویتلوژنین خون و جذب بالاتر آن توسط اووسیت در حال رشد می‌دانند. مشایی (۱۳۹۲) میانگین قطر تخمک ماهی تیلاپیای نیل مولد را در شرایط پرورشی مشابه Campos- (۲/۵۸ \pm ۰/۰۰۹) بیان کرده است. همچنین Mendoza و همکاران (۲۰۰۴) نیز بالاترین قطر تخمک تیلاپیای نیل را در تحقیق خود 2.47 ± 0.02 میلی‌متر و کم‌ترین میزان را 2.36 ± 0.02 میلی‌متر اندازه‌گیری کردند که این اعداد در محدوده نتایج تحقیق حاضر قرار دارد. نتایج شاخص گنادوسوماتیک در تیمارهای DOM و OLA1 در بالاترین حد بود و پایین‌ترین میزان آن متعلق به تیمارهای شاهد، LHRH و CLO1 بود. این نتایج با نتایج سایر شاخص‌ها به جز قطر تخمک انطباق و مشابهت دارد. شاخص هپاتوسوماتیک در تیمار OLA3 بیش‌ترین مقدار بود که این نتیجه با نتایج قطر تخمک انطباق دارد. نتایج این شاخص می‌تواند علت قطر بالای تخمک را در این تیمار توجیه کند. بدین ترتیب که افزایش سایز کبد ناشی از عملکرد بالای

مذکور در همین محدوده وزنی ذکر کرده است. دلیل انتخاب ماهی‌های پیش‌مولد این بود که ممانعت دوپامینرژیک در مرحله پیش‌بلوغ شروع می‌شود و اوج این ممانعت در مرحله ویتلوژنز دیده می‌شود (Levavi-Sivan *et al.*, 2010). مقایسه نتایج شاخص‌های تکثیر در تیمارهای آنتاگونیستی با تیمار LHRH تأیید کننده وجود ممانعت دوپامینرژیک در وقایع رسیدگی تخمدانی و تخم‌ریزی ماهی تیلاپیا می‌باشد که مانع از عملکرد LHRH در فرایند تولیدمثل می‌شود. وجود این ممانعت دوپامینرژیک در ماهی تیلاپیای نیل توسط Levavi-Sivan و همکاران در سال‌های ۱۹۹۵ و ۲۰۰۳ بیان شده است. جداول ۱ و ۲ نشان می‌دهد که نتایج تکثیر گروه‌های کنترل مثبت و منفی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که حلال دی‌متیل سولفو کساید در روند تولیدمثل بی‌تأثیر است. در تحقیقات دیگری نیز از این ماده به عنوان حلال استفاده شده است که گزارشی از تأثیر آن بر روند تولیدمثل ماهی‌ها وجود ندارد (Wang *et al.*, 2009). نتایج موفقیت باروری در بین تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌داد که این مسأله نشان می‌دهد که استفاده از LHRHa، دامپریدون، کلوزاپین و اولانزاپین تأثیر منفی بر روی زیست‌پذیری (Viability) تخمک آزاد شده ماهی‌ها ندارد. نتایج مشابهی نیز در مورد کپور معمولی (Dorafshan *et al.*, 2003)، شاه‌ماهی مرواریدی (Arabasi and Sari, 2004) و ماهی سفید (Paykan Heyrati *et al.*, 2007) گزارش شده است. موفقیت باروری در تیمارهای این آزمایش از ۶۸٪ تا ۷۵٪ متفاوت بود که کمی پایین‌تر از نتایج گزارش شده توسط هوی و همکاران در سال ۲۰۱۲ می‌باشد که

ویتلوژنیک ماهی بوده که تأثیر خود را در سنتز و آزادسازی بیش‌تر ویتلوژنین و به تبع آن جذب ویتلوژنین و ترکیبات زرده و آب بیش‌تر توسط تخمک می‌گذارد (Kjorswik *et al.*, 1990). نتایج سه تیمار اولانزاپین نشان می‌دهد که دوز پایین‌تر این دارو بهترین عملکرد را در فرایند تکثیر و تولیدمثل ماهی تیلایپا ایجاد می‌کند و نتایج آن از دامپریدون نیز بهتر است. این مسأله قدرت بالاتر آنتاگونیست‌های دوپامینی نسل سوم را در مقایسه با نسل‌های قبل آنتاگونیست‌ها نشان می‌دهد. Gerald و Maguire (۲۰۰۲) نیز قدرت بالاتر آنتاگونیست‌های نسل سوم را نسبت به نسل‌های قبلی بیان کرده‌اند. این در حالیست که دوز بهینه اولانزاپین نصف دوز دامپریدون مورد استفاده است و در مقایسه با دامپریدون مقدار کم‌تری دارو به بدن ماهی وارد می‌گردد. همچنین این نتایج اثبات می‌کند که رسپتورهای دوپامینی D2 نقش اصلی را در ممانعت دوپامینرژیک ماهی تیلایپا ایفا می‌کنند و جلوگیری از عملکرد این رسپتورها عملکرد دوپامین را مختل و تضعیف می‌کند. Salingaut و همکاران (۱۹۹۸) نیز رسپتورهای دوپامینی D2 را دارای بیش‌ترین نقش در ایفای اثر ممانعتی دوپامین بر آزادسازی گنادوتروپین دانسته‌اند. اما با توجه به بالاتر بودن شاخص هپاتوسوماتیک و قطر تخمک در تیمار OLA3 می‌توان نتیجه گرفت که اولانزاپین در دوز بالا توانسته است ویتلوژن را در ماهی به بهترین شکل القا کند اما دوز بالای دارو احتمالاً دارای اثرات جانبی منفی (Side effects) است که مانع از تخم‌ریزی بیش‌تر و سریع‌تر ماهی‌ها شده است و در دوزهای بالا بصورت تلفات نمایان می‌گردد (Kieran *et al.*, 2012). با در نظر گرفتن نتایج تکثیر این دو تیمار، دوز ۱۰ میلی‌گرم کلوزاپین راندمان بهتری را

نسبت به دوز ۵ میلی‌گرم ارائه داد و تلفات این تیمار نیز ۱ ماهی در طول دوره آزمایش بود. تیمار CLO3 در مقایسه با دو تیمار دیگر کلوزاپین در مورد شاخص‌های دوره تأخیر، قطر تخمک، شاخص گنادوسوماتیک و شاخص هپاتوسوماتیک نتایج بهتری را از خود نشان داد ولی در مورد شاخص‌های موفقیت تخم‌ریزی، موفقیت باروری و شاخص اوولاسیون عملکرد ضعیف‌تری نسبت به تیمار CLO2 داشت. تلفات این تیمار نیز بالاتر از دو تیمار قبلی و به تعداد ۲ ماهی در طول دوره آزمایش بود. نتایج بهتر تیمارهای کلوزاپین نسبت به تیمارهای شاهد و LHRH نیز تأیید‌کننده وجود ممانعت دوپامینی در ماهی تیلایپاست و نشان می‌دهد که رسپتورهای دوپامینی D4 نیز علاوه بر رسپتورهای D2 در کنترل فرایند رسیدگی جنسی ماهی تیلایپا نقش دارند. با مقایسه عملکرد آنتاگونیست کلوزاپین با اولانزاپین به روشنی می‌توان دریافت که این آنتاگونیست عملکرد ضعیف‌تری نسبت به اولانزاپین داشته است. به‌عنوان مثال همه تیمارهای هورمونی به‌جز تیمار CLO1 اختلاف معنی‌داری از نظر شاخص اوولاسیون با تیمارهای شاهد دارا بودند. تأثیرگذاری این آنتاگونیست در دوز ۱۰ میلی‌گرم و ۱۵ میلی‌گرم نشان‌دهنده اینست که قدرت (potency) مهارکنندگی این دارو نسبت به اولانزاپین کم‌تر است و در دوز پایین اثربخشی مطلوبی ندارد. بنابراین نتیجه بررسی شاخص‌های تکثیر نشان می‌دهد که رسپتورهای دوپامینی D4 به اندازه رسپتورهای D2 در ایفای نقش ممانعتی دوپامین در فرایند تولید مثل تأثیرگذار و دخیل نیستند و به نظر می‌رسد که دوپامین همان‌طور که شواهد قبلی نیز در این مورد ارائه گردیده است، اثر مهاری خود را بیش‌تر از طریق رسپتورهای D2 القاء

منابع

۱. مشایی، ن.، ۱۳۹۲. تعیین بیوتکنیک تکثیر و تولید بچه ماهیان نوری تیلایپای پرورشی در شرایط آب لب شور (گزارش نهایی)، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، ۷۵ صفحه.
 ۲. مشایی، ن.، ۱۳۹۴. تعیین اپتیم‌های تکثیر (شوری، دوره نوری، تراکم، و نسبت جنسی مولدین) ماهیان تیلایپای پرورشی سیاه در شرایط آب لب شور بافق (گزارش نهایی)، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، ۸۳ صفحه.
 3. Arabaci, M., Sari, M., 2004. Induction of ovulation in endemic pearl mullet (*Chalcalburnus tarichi*), living in the highly alkaline Lake Van, using GnRH α ([D-Ser(tBu) $_6$,Pro $_9$ -Net]-GnRH) combined with haloperidol. Short communication. *Aquaculture*, 238, 529-535.
 4. Baroiller, J.F., Desprez, D., Carteret, Y., Tacon P., Borel, F., Hoarreau, M.C., Mélard C., Jalabert, B., 1997. Influence of environmental and social factors on the reproductive efficiency in three tilapia species, *Oreochromis niloticus*, *O. aureus*, and the red tilapia (Red Florida Strain). In: El-Sayed, A.M., 2006. *Tilapia Culture*, CABI Publishing, Oxford, London, UK, 112-139.
 5. Bhujel, R.C., 2000. A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially hapa-based systems. *Aquaculture*, 181, 37-59.
 6. Boehmler, W.T., Carr, C., Thisse, B., Thisse, A., Canfield Levenson, R., 2007. D4 Dopamine receptor genes of zebrafish and effects of the antipsychotic clozapine on larval swimming behavior. *Genes. Brain and behavior*, 6, 155-165.
 7. Campos-Mendoza, A., McAndrew, B.J., Coward, K., Bromage, N., 2004. Reproductive response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to photoperiodic manipulation; effects on spawning periodicity, fecundity and egg size. *Aquaculture*, 231, 299-314.
 8. De Leeuw, R., Habibi, H.R., Nahorniak, C.S. and Peter, R.E., 1989. Dopaminergic regulation of pituitary gonadotropin-releasing hormone receptor activity in the goldfish (*Carassius* mi knd (Salingaut *et al.*, 1998). نتایج تیمار CO نیز نشان‌دهنده اثر مثبت ترکیب دو آنتاگونیست D2 و D4 دوپامین در بهبود روند رسیدگی جنسی تیلایپا است. در مورد تیمار CO نیز با این که دوز اولانزاپین این تیمار برابر با تیمار OLA1 بود ولی نتایج شاخص‌های تکثیر این تیمار ضعیف‌تر از تیمار OLA1 بود و البته بهتر از تیمارهای کلوزاپین بود. به نظر می‌رسد علت این مسأله بالا بودن دوز آنتاگونیستی تزریق شده به ماهی‌ها (مجموعاً ۱۰ میلی گرم) باشد که مانند تیمار OLA2 که کاهش راندمان را نسبت به تیمار OLA1 شاهد بودیم، در این تیمار نیز دوز بالای آنتاگونیست فراتر از تحمل ماهی‌ها بوده باشد.
- به‌عنوان نتیجه‌گیری می‌توان بیان کرد که ممانعت دوپامینرژیک در روند تولیدمثل ماهی تیلایپای نیل وجود دارد و آنالوگ‌های LHRH به تنهایی قادر به القاء و تسریع اوولاسیون در این ماهی نیستند. همچنین نتایج بهتر دوزهای اولانزاپین نسبت به کلوزاپین نشان می‌دهد که رسپتورهای D2 در ماهی تیلایپا نقش مؤثرتری در تأخیر فرایند تولیدمثل دارند و بلاک کردن این رسپتورها مفیدتر از بلاک کردن رسپتورهای D4 است که احتمالاً تأثیر کم‌تری در ممانعت از تولید مثل دارند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از خانم مهندس مشایی رییس مرکز تحقیقات آب شور بافق یزد و همه پرسنل خونگرم آن مرکز به علت همکاری و مساعدت در انجام این تحقیق صمیمانه سپاس‌گزاری می‌گردد.

- R.E., 1986. The effect of LHRH analogue and drugs which block the effects of dopamine on gonadotropin secretion and ovulation in fish cultured in China. In: Billard R., Marcel J. (Eds.), *Aquaculture of Cyprinids*. INRA, Paris, France, 139–150.
21. Little, D.C., Macintosh, D.J., Edwards, P., 1993. Improving spawning synchrony in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture and Fisheries Management*, 24, 399–405.
 22. Park, W., Lee, C. H., Kim, D., Kim, J.H., Tamaru, C.S., Sohn, Y.C., 2007. Effects of a gonadotropin-releasing hormone analog combined with pimozide on plasma sex steroid hormones, ovulation and egg quality in freshwater-exposed female chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Aquaculture*, 271, 488–497.
 23. Peter, R.E., Lin, H.R., Van, Der Kraak, G., 1988. Induced ovulation and spawning in cultured fresh water fish in China: advanced in application of GnRH analogue and dopamine antagonists. *Aquaculture*, 74, 1–10.
 24. Paykan Heyrati, F.P., Mostafavi, H., Toloee, H., Dorafshan, S., 2007. Induced spawning of kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) using (D-Ala⁶, Pro⁹-NEt) GnRH_a combined with domperidone. *Aquaculture*, 265, 288–293.
 25. Pham, H.Q., Kjorsvik, E., Nguyen, A.T., Nguyen, M.D., Arukwe, A., 2010. Reproductive cycle in female Waigieu seaperch (*Psammoperca waigiensis*) reared under different salinity levels and the effects of dopamine antagonist on steroid hormone levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 383, 137–145.
 26. Podhorec, P., Socha, M., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Policar, M., Svinger, V. W., Drozd, B., Kouril J., 2012. Dopamine control of LH release in the tench (*Tinca tinca*), Short communication. *General and Comparative Endocrinology*, 175, 34–38.
 27. Rana, K.J., 1990. Reproductive biology and the hatchery rearing of tilapia eggs and fry. In: *Recent Advances in Aquaculture* (ed. by J.F. Muir, R.J. Roberts), pp. 343–406. Croom Helm, London, UK.
 28. Ridha, M.T., 2004. Observations on the reproductive performance of three mouth-brooding tilapia species in low-salinity underground water. *Aquaculture research*, 35, 1031–1038.
 29. Saligaut, C., Linard, B., Mananos, E.L., Kah, O., Breton, B., Govoroun, M., 1998. Release of pituitary gonadotrophins GtH I and GtH II in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*: *Auratus*). *Journal of Endocrinology*, 121, 239–247.
 9. Dorafshan, S., Mostafavi, H., Amiri, B.M., 2003. Induction of spawning in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract and GnRH analogue in combination with Domperidone. *Iranian Journal of Biotech*, 1, 213–217.
 10. El-Sayed, A.M., 2006. *Tilapia Culture*. CABI Publishing, Oxford, London, UK, pp. 112–139.
 11. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2013. *Food and Agriculture Organization of the United Nations FishStatJ: A Tool for Fishery Statistics Analysis, Version 1.0.1*. Available at: <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en> (Accessed 26 March 2013).
 12. Gerald, A., Maguire, M.D., 2002. Prolactin elevation with antipsychotic medications: Mechanism of action and clinical consequences. *Journal of clinical psychiatry*, 63(4), 56–62.
 13. Green B.W. El Nagdi Z., Hebicha, H., 2002. Evaluation of Nile tilapia pond management strategies in Egypt. *Aquaculture research*, 33, 1037–1048.
 14. Hui, W., Xiaowen Z., Haizhen, W., Jun Q., Pao, X., Ruiwei L., 2012. Joint effect of temperature, salinity and pH on the percentage fertilization and hatching of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture research*, 1–11.
 15. Kieran, J., Davey, S., Cryan, J.F., 2012. Gender-dependent consequences of chronic olanzapine in the rat: effects on body weight, inflammatory, metabolic and microbiota parameters. *psychopharmacology*, 221, 155–169.
 16. Kjorsvik, E., Magnor-Jensen, A., Holmeffjord, I., 1990. Egg quality in fishes. *Adv. Mar. Biology*, 26, 71–113.
 17. Levavi-Sivan, B., Avitan, A., Kanas, T., 2003. Characterization of the inhibitory dopamine receptor from the pituitary of tilapia. *Fish Physiol. Biochemistry*, 28, 73–75.
 18. Levavi-Sivan, B., Ofir, M., Yaron, Z., 1995. Possible sites of dopaminergic inhibition of gonadotropin release from the pituitary of a Teleost fish, tilapia. *Mol. Cell. Endocrinology*, 109, 87–95.
 19. Levavi-Sivan, B., Bogerd, J., Mananos E.L., Gómez, A., Lareyre, J.J., 2010. Perspectives on fish gonadotropins and their receptors. *General and Comparative Endocrinology*, 165, 412–437.
 20. Lin, H.R., Kraak, G., Liang, J.Y., Peng, C., Li, G.Y., Lu, L.Z., Zhou, X.J., Chang M.L., Peter

34. Van Tol, H.H., Bunzow, J.R., Guan, H.C., Sunahara, R. K., Seeman, P., Niznik, H. B., Civelli, O., 1991. Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature*, 350, 610–4.
35. Wang, W., Hu, M., Wang, W., Liu, X., Cheung S.G., Shin P.K.S., Song L., 2009. Effects of GnRHa (D-Ala6, Pro9-NEt) combined with domperidone on ovulation induction in wild loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *Aquaculture*, 291, 136–139.
36. Wang, X., Zhao, T., Wei, H., Zhou, H., 2011. Regulation of dopamine D2 receptor expression in grass carp pituitary cells: A possible mechanism for dopaminergic modification of luteinizing hormone synthesis. *General and Comparative Endocrinology*, 173, 48–55.
37. Wang, M., Lu, M., 2015. Tilapia polyculture: a global review. *Aquaculture research*, 1-12.
- modulation by estradiol and catecholamines. *Gen. Comp. Endocrinology*, 109, 302–309.
30. Sanyal, S., Van Tol, H.H., 1997. Review the role of dopamine D4 receptors in schizophrenia and antipsychotic action. *Journal of Psychiatr Research*, 31, 219–32.
31. Sharaf, S.M., 2012. Effect of GnRHa, pimozide and Ovaprim on ovulation and plasma sex steroid hormones in African catfish *Clarias gariepinus*. *Theriogenology*, 77, 1709–1716.
32. Szabo, T., Medgyasszay, C., Horvath, L., 2002. Ovulation induction in nase (*Chondrosoma nasus*, Cyprinidae) using pituitary extract or GnRH analogue combined with domperidone. *Aquaculture*, 203, 389–395.
33. Vacher, C., Mananos, E.L., Breton, B., Marmignon, M.H., Saligaut, C., 2000. Modulation of pituitary dopamine D1 or D2 receptors and secretion of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone during the annual reproductive cycle of female rainbow trout. *J. Neuroendocrinology*, 12, 1219–1226.